

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JOSÉ RICARDO HENNEBERG

“AVALIAÇÃO DA ANÁLISE MICROSCÓPICA TRADICIONAL E DO ANALISADOR
AUTOMATIZADO IQ 200® NO EXAME DE URINA”

CURITIBA
2014

JOSÉ RICARDO HENNEBERG

AVALIAÇÃO DA ANÁLISE MICROSCÓPICA TRADICIONAL E DO ANALISADOR
AUTOMATIZADO IQ 200® NO EXAME DE URINA

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Aguinaldo José do Nascimento

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Aline Borsato Hauser

CURITIBA
2014

Henneberg, José Ricardo

Avaliação da análise microscópica tradicional e do analisador automatizado
IQ 200® no exame de urina / José Ricardo Henneberg – Curitiba, 2014.
108 f. : il. ; 30 cm

Orientador: Professor Dr. Aguinaldo José do Nascimento

Coorientadora: Professora Dra. Aline Borsato Hauser

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná,
2014.

Inclui bibliografia

1. Urinálise. 2. Câmara de Neubauer. 3. KCell®. 4. IQ 200®. 5. Eritrócitos
dismórficos. I. Nascimento, Aguinaldo José do. II. Hauser, Aline Borsato.
III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 616.07566

TERMO DE APROVAÇÃO


JOSÉ RICARDO HENNEBERG

Título: "AVALIAÇÃO DA ANÁLISE MICROSCÓPICA TRADICIONAL E DO ANALISADOR AUTOMATIZADO IQ 200® NO EXAME DE URINA"

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Paraná, área de concentração: Análises Clínicas.



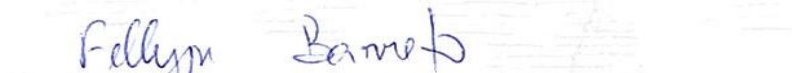
Prof. Dr. Aguiinaldo José do Nascimento
Orientador



Profª. Drª. Aline Borsato Hauser
Co-orientadora



Profª. Drª. Dayane Alberton
Universidade Federal do Paraná



Prof. Dr. Fellype de Carvalho Barreto
Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Curitiba, 05 de setembro de 2014.

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a minha querida esposa Andiara e aos meus amados filhos Leonardo e Isabela, pelo apoio, compreensão e paciência que tiveram durante todo o período em que estive envolvido nesse projeto.

Aos meus pais Joel Ricardo (*in memoriam*) e Neusa pelo exemplo e esforço para nos proporcionar a melhor educação possível.

A Deus, Grande Arquiteto do Universo, por todas as bênçãos recebidas.

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores Prof. Dr. Aguinaldo José do Nascimento e Prof^a Dr^a Aline Borsato Hauser, por compartilharem seus conhecimentos e me orientarem na execução desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Raílson Henneberg por me incentivar e apoiar durante o período em que estive em Curitiba.

À Gislene Kussen, Dr^a Laura Cogo e demais profissionais do Setor de Bacteriologia da UAD-HC.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPR, na pessoa de seu Coordenador Prof. Dr. Roberto Pontarolo, pelo apoio recebido.

RESUMO

A análise de urina é um dos exames mais solicitados na rotina laboratorial, por ser um procedimento não invasivo, com facilidade na obtenção da amostra, simples execução e de grande auxílio no diagnóstico das patologias do sistema urinário. Apesar de ser um exame antigo e que deu início à medicina laboratorial, ainda faltam critérios de padronização no preparo e na execução das análises. Devido aos constantes avanços tecnológicos, a automação na urinálise vem sendo utilizada por muitos laboratórios com metodologias distintas e que justificam estudos para a padronização dos resultados. **Objetivo:** Comparar os resultados laboratoriais fornecidos pelo equipamento IQ200® com os métodos manuais da Câmara de Neubauer e Kcell®. **Material e Métodos:** O equipamento IQ200® foi comparado com dois métodos de quantificação celular por meio de câmaras de contagem, K Cell® e Neubauer, em microscopia ótica tradicional, utilizando amostras de urina não centrifugadas. Também foram comparados os dados fornecidos pela tira reativa nas reações de esterase leucocitária e hemoglobina, com as contagens celulares no IQ 200®. **Resultados:** A contagem em câmara Neubauer apresentou boa correlação com o equipamento IQ200® para a contagem de leucócitos ($R=0,778$) e para a contagem de eritrócitos ($R=0,757$). A contagem em Câmara KCell® apresentou boa correlação com o equipamento IQ200® para a contagem de leucócitos ($R=0,693$) e para a contagem de eritrócitos ($R=0,888$). As duas metodologias tradicionais também apresentaram boa correlação entre si na contagem de eritrócitos ($R=0,868$) e de leucócitos ($R=0,932$). A reação de esterase leucocitária comparada com a contagem de leucócitos apresentou diferença significativa ($p<0,001$), assim como a reação de hemoglobina ($p=0,019$) quando comparada com a contagem de eritrócitos no IQ 200®. Foi verificado que o equipamento IQ200® relata a presença de eritrócitos dismórficos e cilindros com inclusões como “elementos não classificados”. **Discussão:** Em relação às contagens celulares, os métodos se correlacionam, mas foi verificado que o IQ 200® não conseguiu identificar eritrócitos dismórficos sendo necessária a intervenção do profissional para reclassificação, assim como no caso dos cilindros com inclusões. **Conclusão:** O IQ200® demonstrou ser uma ferramenta útil na urinálise desde que seja operado por profissionais capacitados e treinados na identificação dos elementos urinários. A KCell ® demonstrou ser uma boa alternativa na urinálise tradicional pela rapidez com que as amostras são analisadas. Ressaltamos que as metodologias utilizadas devem ser complementadas com a microscopia, para que os resultados sejam os mais fidedignos possíveis em relação à condição clínica do paciente.

Palavras-chave: Urinálise. Câmara de Neubauer. KCell®, IQ 200®. Eritrócitos dismórficos

ABSTRACT

Urine analysis is one of the most requested exams in laboratorial routine, for being a non invasive procedure, its facility to get samples, simple execution, and for being a great help to diagnose pathologies in the urinary system. Even though it is an old form of examination, which started laboratorial medicine, it is still missing standardization criteria for preparing and executing the analysis. Due to the constant technology breakthrough, the automation of urinalysis is being conducted by many laboratories with distinctive methodologies, justifying this way the studies for the result standardization. **Objective:** To compare the lab results provided for the equipment IQ200® with the manual methods from the Neubauer Chamber and Kcell®. **Material and Methods:** The IQ200® equipment was compared with two methods of cellular quantification by chamber counting, K Cell® and Neubauer, in traditional optical microscopy, using not centrifuged urine samples. It was also compared the data provided by the relative strips of the leukocyte esterase and hemoglobin with the cellular counting at the IQ 200®. **Results:** The counting at the Neubauer Chamber showed a good correlation with the equipment IQ200® for the leukocyte counting ($R=0.778$) and for the erythrocyte counting ($R=0.757$). Counting at the KCell® Chamber showed a good correlation with the equipment IQ200® for the leukocyte counting ($R=0.693$) and for the erythrocyte counting ($R=0,888$). The two traditional methodologies also shower a good correlation between them at the erythrocyte ($R=0.868$) and leukocyte ($R=0.932$) counting. The leukocyte esterase reaction compared to the leukocyte counting showed a significant difference ($p<0.001$), as well as the hemoglobin reaction ($p= 0.019$) when compared to the erythrocyte counting at the IQ 200®. It was verified that the IQ200® equipment shows the presence of dysmorphic erythrocytes and casts with inclusions as “non-classified elements”. **Discussion:** Concerning to the cellular counting, the two methods were correlated, but it was verified that the IQ 200® was not able to identify dysmorphic erythrocytes, being needed a professional intervention for reclassification, well as in the casts with inclusions case. **Conclusion:** The IQ200® demonstrated to be a useful tool for the urinalysis, as long it is operated by qualified professionals who were trained in the identification of the urine elements. The KCell® demonstrated to be a good alternative in traditional urinalysis due to the speed as samples are analyzed. We highlight that the used methodologies must be complemented by microscopy, so that more reliable results in relation to the patient’s clinical condition should be obtained.

Key words: Urinalysis, Neubauer Chamber, KCell®, IQ 200®, Dysmorphic Erythrocytes

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – REPRESENTAÇÃO DA LOCALIZAÇÃO DOS RINS.....	14
FIGURA 2 – ANATOMIA RENAL.....	15
FIGURA 3 – REPRESENTAÇÃO DOS GLOMÉRULOS.....	17
FIGURA 4 – ACANTÓCITOS EM AMOSTRA DE URINA.....	29
FIGURA 5 – ACANTÓCITOS EM AMOSTRA DE URINA MICROSCOPIA ELETRÔNICA.....	29
FIGURA 6 – IMAGENS DO EXPERIMENTO DE KUBOTA <i>et al</i> (1988).....	30
FIGURA 7 – LEUCÓCITOS EM AMOSTRA DE URINA.....	33
FIGURA 8 – HISTIÓCITOS.....	34
FIGURA 9 – CÉLULAS EPITELIAIS EM AMOSTRA DE URINA.....	36
FIGURA 10 – CILINDROS EM AMOSTRA DE URINA.....	38
FIGURA 11 – CILINDRO GRANULOSO CONVOLUTO EM AMOSTRA DE URINA.....	38
FIGURA 12 – DIAGRAMA DO CITÔMETRO DE FLUXO.....	57
FIGURA 13 – DIAGRAMA DO SISTEMA DE LASER DE ARGÔNIO.....	58
FIGURA 14 – EQUIPAMENTO IRIS IQ200®.....	60
FIGURA 15 – IMAGENS CAPTADAS PELO IQ200®.....	63
FIGURA 16 – REPRESENTAÇÃO DO RETÍCULO DE CONTAGEM DA CÂMARA DE NEUBAUER.....	64
FIGURA 17 – REPRESENTAÇÃO DA CÂMARA KCELL®.....	66
FIGURA 18 – SEXO DOS PACIENTES.....	68
FIGURA 19 – IDADE DOS PACIENTES.....	69
FIGURA 20 – PRESENÇA DE ESTERASE LEUCOCITÁRIA NAS AMOSTRAS.....	70
FIGURA 21 – COMPARAÇÃO ENTRE ESTERASE LEUCOCITÁRIA E CONTAGEM DE LEUCÓCITOS.....	71
FIGURA 22 – PRESENÇA DE HEMOGLOBINA NAS AMOSTRAS.....	72
FIGURA 23 – COMPARAÇÃO ENTRE HEMOGLOBINA E CONTAGEM DE ERITRÓCITOS.....	73
FIGURA 24 – MORFOLOGIA ERITROCITÁRIA NAS AMOSTRAS.....	74
FIGURA 25 – REGISTRO FOTOGRÁFICO DE ERITRÓCITOS DISMÓRFICOS NO IQ200®.....	74

FIGURA 26 – ERITRÓCITOS DISMÓRFICOS EM AMOSTRA DE URINA.....	75
FIGURA 27 – CILINDROS NA MICROSCOPIA ÓTICA.....	76
FIGURA 28 – CONTAGEM DE LEUCÓCITOS NO IQ200®.....	77
FIGURA 29 – CONTAGEM DE LEUCÓCITOS NA CÂMARA DE NEUBAUER.....	78
FIGURA 30 – CONTAGEM DE LEUCÓCITOS NA KCELL®.....	78
FIGURA 31 – CONTAGEM DE ERITRÓCITOS NO IQ200®.....	80
FIGURA 32 – CONTAGEM DE ERITRÓCITOS NA CÂMARA DE NEUBAUER....	80
FIGURA 33 – CONTAGEM DE ERITRÓCITOS NA KCELL®.....	81
FIGURA 34 – COMPARAÇÃO ENTRE A CONTAGEM DE ERITRÓCITOS NA KCELL® E IQ200®.....	82
FIGURA 35 – COMPARAÇÃO ENTRE A CONTAGEM DE LEUCÓCITOS NA KCELL® E IQ200®.....	83
FIGURA 36 - COMPARAÇÃO ENTRE A CONTAGEM DE ERITRÓCITOS NA CÂMARA DE NEUBAUER E IQ200®.....	84
FIGURA 37 - COMPARAÇÃO ENTRE A CONTAGEM DE LEUCÓCITOS NA CÂMARA DE NEUBAUER E IQ200®.....	85
FIGURA 38 - COMPARAÇÃO ENTRE A CONTAGEM DE ERITRÓCITOS NA CÂMARA DE NEUBAUER E KCELL®.....	86
FIGURA 39 - COMPARAÇÃO ENTRE A CONTAGEM DE LEUCÓCITOS NA CÂMARA DE NEUBAUER E KCELL®.....	87
FIGURA 40 - COMPARAÇÃO ENTRE A CONTAGEM DE LEUCÓCITOS NA CÂMARA DE NEUBAUER E KCELL® CORRIGIDA.....	87

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – CONTAGEM DE LEUCÓCITOS/ML COMPARADOS COM PRESENÇA DE ESTERASE LEUCOCITÁRIA.....	71
TABELA 2 – CONTAGEM DE ERITRÓCITOS/ ML COMPARADOS COM PRESENÇA DE HEMOGLOBINA.....	72
TABELA 3 – CONTAGEM DE LEUCÓCITOS NO IQ 200®, CÂMARA DE NEUBAUER E KCELL®.....	77
TABELA 4 – CONTAGEM DE ERITRÓCITOS NO IQ 200®, CÂMARA DE NEUBAUER E KCELL®.....	79

LISTA DE ABREVIATURAS

®	- MARCA REGISTRADA
µl	- MICRO LITRO
µm	- MICROMETRO
ABNT	- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS
APR	- AUTO PARTICLE RECOGNITION
ATR	- ACIDOSE TUBULAR RENAL
CCD	- CHARGED COUPLING DEVICE
CLSI	- CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE
DRC	- DOENÇA RENAL CRÔNICA
ERIT	- ERITRÓCITOS
EUG	- EUROPEAN URINALYSIS GROUP
IRA	- INJÚRIA RENAL AGUDA
ITU	- INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO
KEEP	- KIDNEY EARLY EVALUATION PROGRAM
LEUC	- LEUCÓCITOS
log	- LOGARITMO
mL	- MILILITRO
min	- MINUTO
mm	- MILIMETRO
NCC-CC	NATIONAL COLLABORATING CENTRE FOR CHRONIC CONDITIONS
pH	- POTENCIAL HIDROGENIÔNICO
PMMA	- POLIMETIL METACRILATO
RCF	- FORÇA CENTRÍFUGA RELATIVA
UAD-HC	- UNIDADE DE APOIO DIAGNÓSTICO DO HOSPITAL DE CLÍNICAS
UFPR	- UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1 ANATOMIA DO TRATO URINÁRIO	14
2.3 PRINCIPAIS PROCESSOS FISIOLÓGICOS RENAIIS	17
2.4 PRINCIPAIS FUNÇÕES RENAIIS	18
2.5 PRINCIPAIS PATOLOGIAS DO SISTEMA URINÁRIO E SEUS ACHADOS LABORATORIAIS. ...	18
2.5.1 Síndrome nefrítica aguda ou glomerulonefrite aguda.....	20
2.5.3 Doença renal crônica (DRC)	21
2.5.4 Síndrome nefrótica	23
2.5.5 Infecção do trato urinário (ITU).....	23
2.5.6 Obstrução do trato urinário.....	25
2.5.7 Defeitos da função tubular.....	26
2.6 ACHADOS URINÁRIOS: IMPORTÂNCIA E CORRELAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL.....	26
2.6.1 Hematúria.....	26
2.6.2 Leucócitos	32
2.6.3 Células Epiteliais	34
2.6.4 Cilindros	36
2.7.1 Avaliação Físico-Química da Urina	40
2.7.1.1 Avaliação Física	40
Densidade	42
Proteínas.....	45
Glicose	46
Bilirrubina e Urobilinogênio.....	47
Esterase leucocitária	50
Hemoglobina	51
2.7.2 AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA DA URINA.....	53
2.7.3 AUTOMAÇÃO NA URINÁLISE	55
2.7.3.2 Citometria de fluxo.....	56
2.7.3.3 Microscopia automatizada com imagem digital	59
2.7.3.4 Imagem digital com reconhecimento de partículas.....	59
3 MATERIAL E MÉTODOS	61

3.1 PRINCÍPIO ANALÍTICO DO IQ 200	62
3.2 METODOLOGIA DE CONTAGEM EM CÂMARA DE NEUBAUER	64
3.3 METODOLOGIA DE CONTAGEM NA CÂMARA K-CELL.....	65
4 RESULTADOS.....	68
4.1 SEXO	68
4.2 IDADE.....	69
4.3 ESTERASE LEUCOCITÁRIA.....	70
4.4 HEMOGLOBINA.....	72
4.5 MORFOLOGIA ERITROCITÁRIA.....	74
4.6 PRESENÇA DE CILINDROS	75
4.7 OUTROS ACHADOS	76
4.8 CONTAGEM DE LEUCÓCITOS	76
4.9 CONTAGEM DE ERITRÓCITOS	79
4.10 COMPARAÇÃO ENTRE AS METODOLOGIAS DE CONTAGEM	81
4.10.1 COMPARAÇÃO ENTRE K-CELL® E O EQUIPAMENTO IQ 200®	81
4.10.2 COMPARAÇÃO ENTRE A CONTAGEM EM CÂMARA DE NEUBAUER E O EQUIPAMENTO IQ 200®.....	83
4.10.3 COMPARAÇÃO ENTRE CÂMARA DE NEUBAUER E K-CELL®.....	85
5. DISCUSSÃO	88
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	98
7 CONCLUSÃO	100
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	101

1 INTRODUÇÃO

As doenças renais constituem importante problema de saúde pública em todo o mundo (FOLEY, 1998). Segundo CENSO 2013 da Sociedade Brasileira de Nefrologia existe cerca 100 mil pacientes recebendo terapia substitutiva de função renal e a taxa de mortalidade anual estimada é de 14 mil pacientes dialíticos, a faixa etária com maior incidência é a de 19 a 64 anos, sendo que a maioria dos pacientes é do sexo masculino (58%) (CENSO SBN, 2014). Dessa forma, o reconhecimento e o manejo precoces de pacientes em estágios iniciais das patologias renais, poderiam reduzir a progressão para doença renal crônica (DRC) e o crescimento dos pacientes urêmicos com DRC terminal submetidos à terapia de substituição renal (BARROS, 2006; GOMES E MASTROIANNI, 2011).

Dentre os programas que visam à padronização de condutas para o manejo e a detecção precoce de doença renal, destaca-se o *Kidney Early Evaluation Program* (KEEP) que recomenda a utilização na rotina do parcial de urina e aponta para a importância da detecção de hematuria e proteinúria como sinais primários da presença de doença renal. Nota-se também a importância em se verificar a morfologia dos eritrócitos para determinar a origem do sangramento, visto que a presença de eritrócitos dismórficos determina hemorragia glomerular, auxiliando no diagnóstico precoce e diferencial das glomerulonefrites (VASCONCELLOS, 2005).

A análise da urina ou urinálise deu início à medicina laboratorial e atualmente é realizada por meio do exame conhecido como parcial de urina. Os sintomas causados por patologias renais ou do trato urogenital, são muito semelhantes entre si, o que torna a análise da urina uma “janela” para os rins e para o trato urogenital, apresentando características próprias conforme a região afetada. O parcial de urina é um exame extremamente popular e importante na medicina preventiva por ser uma amostra de obtenção rápida e coleta fácil. Além de fazer parte dos exames periódicos, admissionais ou demissionais em Saúde Ocupacional, faz parte dos exames ambulatoriais de rotina visto que traz informações sobre as principais funções metabólicas do organismo.

Portanto, o parcial de urina constitui uma ferramenta útil para o auxílio diagnóstico das doenças renais de forma precoce. O exame é realizado em muitos laboratórios clínicos de forma tradicional, mas o avanço tecnológico é uma realidade e a automação dos exames de urina tem demonstrado resultados confiáveis na análise quantitativa dos elementos presentes na urina e que visam à padronização e a redução do tempo para a execução das análises (OKADA, 2007; HAUSS, 2008).

Considerando que a metodologia por automação apresenta vantagens como menor tempo para a execução da análise e resultados padronizados na quantificação dos elementos presentes na urina, o referido projeto pretendeu comparar os resultados obtidos por análise automatizada e utilizando a contagem em Lâminas K-Cell® (por mL) e em Câmara de Neubauer (por mL) em amostras de urina para fins de auxílio no diagnóstico das doenças renais.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ANATOMIA DO TRATO URINÁRIO

O sistema urinário é composto por órgãos uropoéticos capazes de elaborar e armazenar a urina temporariamente até sua eliminação para o exterior. Esse sistema se apresenta dividido em órgãos secretores (rins) e órgãos excretores formados por um conjunto de tubos cujo reservatório é a bexiga (RIELLA, 2010). A urina é um ultrafiltrado do plasma formada nos rins e carregada pelos ureteres até a bexiga, onde fica armazenada até a sua completa eliminação para o meio externo pela uretra (MUNDT, 2011).

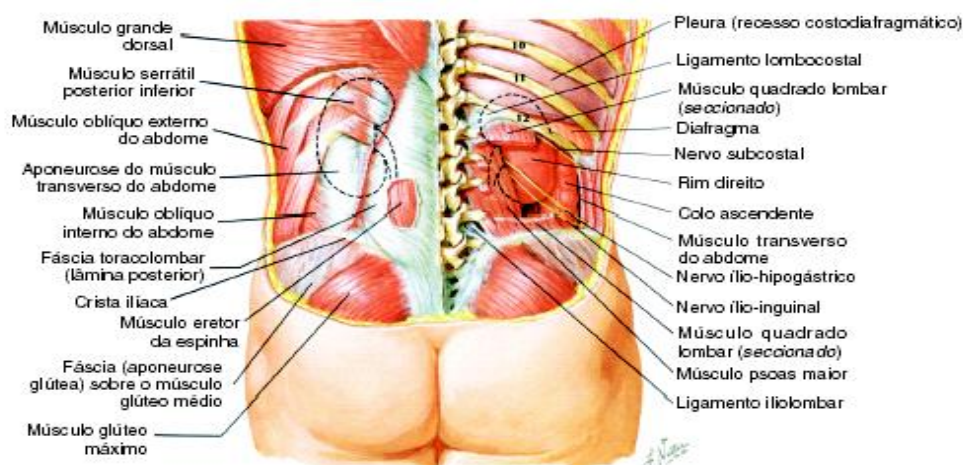


FIGURA 1 - REPRESENTAÇÃO DA LOCALIZAÇÃO DOS RINS NA REGIÃO LOMBAR, PRÓXIMOS A COLUNA VERTEBRAL NA REGIÃO POSTERIOR DO PERITÔNIO
 FONTE: RIELLA, M.C. PRINCÍPIOS DE NEFROLOGIA E DISTÚRBIOS HIDROELETROLÍTICOS. 5 ED. RIO DE JANEIRO: GUANABARA KOOGAN, 2010.

Anatomicamente, os rins apresentam o hilo renal, situado na borda mediana com uma reentrância onde penetram ou saem os elementos que constituem o pedículo renal representado por artérias, veias, nervos, vasos linfáticos e ureter. Sobre o polo superior, independente do rim, encontra-se a glândula suprarrenal formando um capuz triangular. A fáscia renal é um envelope de tecido conjuntivo onde os rins e a glândula renal estão contidos. O espaço peri renal fica localizado

entre a fáscia renal e a cápsula renal (membrana fina fibroelástica brilhante que envolve o órgão), preenchido por um tecido gorduroso que é a cápsula adiposa que prende o rim. A região mais externa é o córtex, composto por um tecido homogêneo periférico. A medula é a região central composta por prolongamentos formando as colunas renais de Bertin ou pirâmides renais com disposição raiada mais escura. Nas pirâmides aparecem os tubos coletores com estrias mais profundas por onde a urina é gotejada, chamados pequenos cálices (até 3 papilas) e quando em número de quatro, formando os grandes cálices que desembocam no ureter (FIGURA 2).

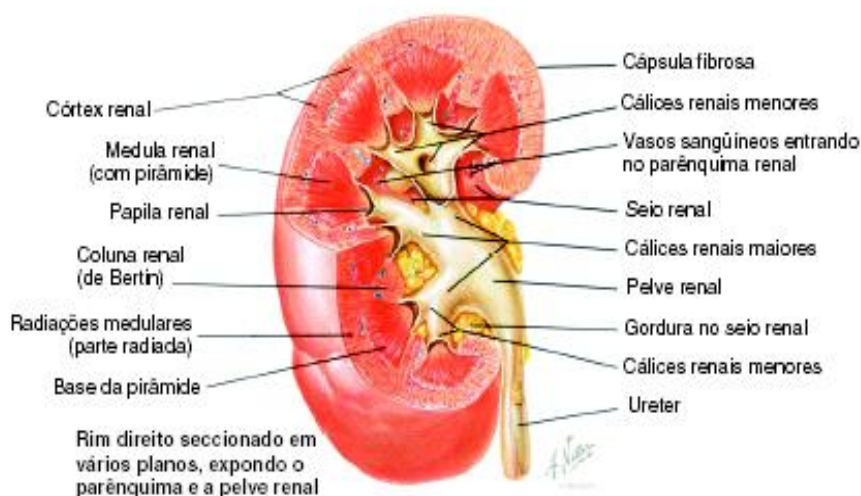


FIGURA 2 - ANATOMIA RENAL. CORTE ANATÔMICO EM VÁRIOS PLANOS EXPONDO O PARÊNQUIMA E A PELVE RENAL

FONTE: RIELLA, M.C. PRINCÍPIOS DE NEFROLOGIA E DISTÚRBIOS HIDROELETROLÍTICOS. 5 ED. RIO DE JANEIRO: GUANABARA KOOGAN, 2010.

Os ureteres são um par de tubos revestidos internamente por uma mucosa. Um adulto apresenta cerca de 30 cm de comprimento e cerca de 2 a 8 mm de diâmetro com três túnicas: adventícia, intermediária e interna. A finalidade é transportar a urina do rim até a bexiga. A bexiga pode estar cheia apresentando um formato esférico ou quando vazia se apresenta achatada. A sua capacidade é variável, pois apresenta como estrutura paredes enrugadas que permitem a distensão, mas geralmente no adulto é de aproximadamente 300 mL de urina. A bexiga está localizada na pelve, parte anterior e abaixo da cavidade peritoneal,

espaço atrás dos ossos pubianos e sua função é de reservatório, sendo que a cada minuto é formado cerca de 1 mL urina (STRASINGER, 2009).

2.2 Os Rins

Cada rim humano contém aproximadamente de 1 a 1,5 milhão de unidades funcionais chamadas néfrons que são divididos em dois tipos: os néfrons corticais, localizados no córtex renal e responsáveis em primeiro lugar pela remoção de resíduos e pela reabsorção de nutrientes. Os néfrons justa-medulares têm alças de Henle profundas que se estendem para a medula do rim; sua principal função é concentrar a urina (MUNDT, 2011).

O glomérulo é constituído por um novelo de, aproximadamente, oito lobos capilares, referidos coletivamente como tubo capilar. Localiza-se dentro da cápsula Bowman, que constitui o início dos túbulos renais (STRASINGER, 2009).

A camada externa (parietal) da cápsula de Bowman é composta por epitélio escamoso. Esta camada epitelial repousa sobre uma fina lâmina basal. A camada interna (visceral) da cápsula de Bowman é composta por células especializadas conhecidas como podócitos (Figura 3) (MUNDT, 2011).

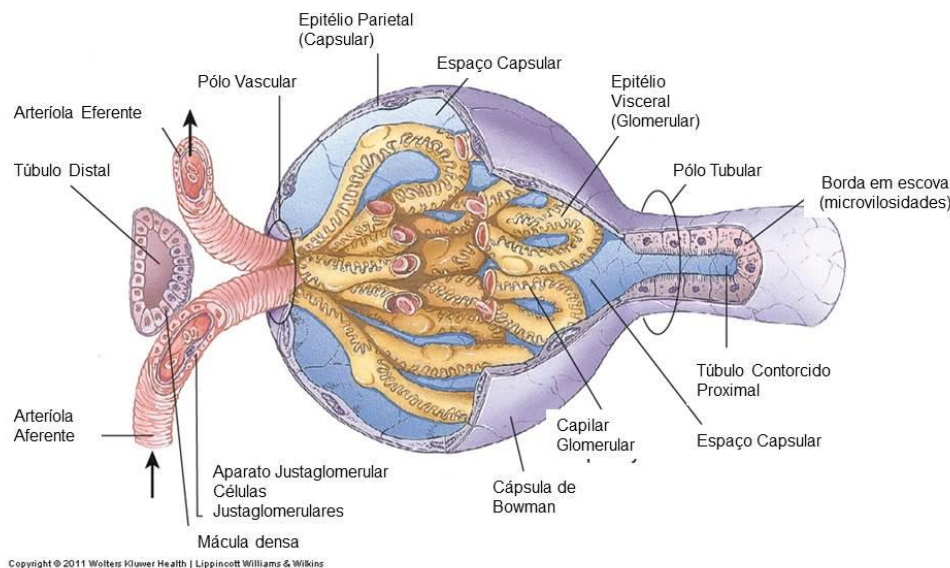


FIGURA 3. FLUXO SANGUÍNEO RENAL E O GLOMÉRULO. CÁPSULA DE BOWMAN, APARATO JUSTAGLOMERULAR E TUFO GLOMERULAR

FONTE: ADAPTADO DE MUNDT, L.A. GRAFF'S TEXTBOOK OF ROUTINE URINALYSIS AND BODY FLUIDS 2 ED. PHILADELPHIA.WOLTERS KLUWER, 2011 .

2.3 PRINCIPAIS PROCESSOS FISIOLÓGICOS RENAIS

A capacidade seletiva dos rins em excretar os resíduos e, ao mesmo tempo, de manter o balanço hidroeletrolítico é controlada nos néfrons pelas seguintes funções renais: fluxo sanguíneo renal, filtração glomerular, reabsorção tubular e secreção tubular (STRASINGER, 2009).

Os rins recebem um grande fluxo sanguíneo. Aproximadamente 20 a 25% de todo sangue que deixa o ventrículo esquerdo do coração, entra nos rins através das artérias renais. Em um adulto com tamanho corporal médio de 1,73 m² de superfície, o fluxo sanguíneo renal total é de, aproximadamente, 1.200 mL/min (MUNDT, 2011).

O filtrado plasmático passa por três camadas celulares: a membrana da parede capilar, a membrana basal (lâmina basal), bem como o epitélio visceral da cápsula de Bowman. As células endoteliais da parede capilar diferem das de outros capilares por conter poros e são conhecidas como fenestradas, esses poros

aumentam a permeabilidade capilar, mas não permite a passagem de grandes moléculas com peso molecular superior a 70.000. O entrelaçamento que existe entre a membrana basal e as membranas finas dos pedicelos dos podócitos atua de maneira restritiva às moléculas de grande peso molecular (STRASINGER, 2009).

Assim como impede a eliminação de moléculas de grande peso molecular, a membrana basal glomerular impede que células sanguíneas sejam eliminadas através do filtrado plasmático (MUNDT, 2011).

2.4 PRINCIPAIS FUNÇÕES RENAIS

O sistema renal é vital para:

- a) eliminação de catabólitos produzidos diariamente pelo metabolismo;
 - b) regular a homeostase hidroleletrolítica, incluindo o cálcio, fósforo, magnésio e equilíbrio ácido-base;
 - c) manter constante o volume extra-celular;
 - d) regular a pressão arterial sistêmica;
 - e) a síntese de eritropoietina e da forma ativa da vitamina D [1,25 (H)₂ D₃];
 - f) a degradação de peptídeos circulantes, como por exemplo, a insulina
- (BARROS, 2006).

A importância do fluxo sanguíneo nos rins para a formação da urina não deve ser subestimado, vários produtos do metabolismo passam da corrente circulatória para a urina e são excretados do organismo através dos rins. Sem o volume e pressão sanguínea adequada, a urina não pode ser formada. O sistema circulatório é crucial para a retenção de água e moléculas orgânicas chave para o filtrado renal inicial, prevenindo a desidratação e perda de nutrientes essenciais (MUNDT, 2011).

2.5 Principais Patologias do Sistema Urinário e seus Achados Laboratoriais.

A apresentação clínica dos pacientes com doenças renais primárias ou secundárias é muito variável, muitos permanecem assintomáticos por longos

períodos, e então, desenvolvem lenta ou progressivamente um ou mais sintomas. Esses sintomas podem estar relacionados com o sistema urinário, tais como hematúria macroscópica e disúria. Outras vezes os sintomas podem ser inespecíficos e extra-renais, como hipertensão arterial e edema. Em pacientes assintomáticos o diagnóstico é realizado com base em exames complementares (ROBINSON, 1986; BARROS, 2006).

Pacientes assintomáticos podem apresentar proteinúria, hematúria, leucocitúria e cilindrúria, isoladamente ou combinadas. Frequentemente são observadas em uma análise de urina rotineira, podendo ocorrer na ausência de função renal alterada, hipertensão, edema, urolitíase, infecção ou obstrução do trato urinário, ou qualquer outra manifestação de doença renal. A presença de proteinúria, hematúria e leucocitúria é quase sempre indicativa de doença renal subjacente; quando as mesmas ocorrem isoladamente, pode ou não ser indicativa de doença renal (ROBINSON, 1986).

A hematúria é um dos principais sinais de patologias renais ou urinárias, mas geralmente é uma alteração silenciosa, o que pode gerar atrasos no diagnóstico (TITAN, 2013).

2.5.1 Síndrome nefrítica aguda ou glomerulonefrite aguda

Representa a resposta clínica generalizada a diversas doenças inflamatórias agudas do néfron. Clinicamente caracteriza-se pelo aparecimento de edema periférico com evidências de sobrecarga do volume circulatório, hipertensão e hemodiluição. Observam-se diferentes graus de redução do índice de filtração, bem como uremia, com ou sem oligúria ou distúrbios eletrolíticos. O exame de urina revela hematúria macro ou microscópica, leucocitúria estéril como a de um processo inflamatório não bacteriano, proteinúria (menor que 2 a 3 g/dia) e cilindrúria, incluindo a presença de cilindros hemáticos. Pode ocorrer também hipocomplementemia (BARROS, 2006).

Quanto à origem, as glomerulonefrites, podem ser classificadas em primárias; patologias restritas aos rins e secundárias quando decorrem de doenças sistêmicas. E quanto à etiologia as glomerulonefrites podem ser classificadas em infecciosas ou não infecciosas (TITAN, 2013).

Apesar da patogênese não estar bem esclarecida, diversos estudos sugerem que mecanismos imunológicos sejam comuns às diversas etiologias da síndrome. Acredita-se que tanto o processo imunológico celular quanto o humoral possam estar envolvidos. A lesão humoral no glomérulo pode ser mediada por diversos mecanismos:

- a) formação *in situ* do complexo antígeno-anticorpo, nesse caso o anticorpo pode estar direcionado a constituintes normais do glomérulo;
- b) antígenos plantados no glomérulo, sendo exógenos como na glomerulonefrite pós estreptocócica ou endógenos como na nefrite lúpica e
- c) deposição de complexos circulantes (TITAN, 2013).

Pacientes com Hepatite C podem desenvolver glomerulonefrite aguda, sendo constatada através de microscopia eletrônica a presença de partículas virais depositadas na região para-mesangial dos glomérulos. As alterações urinárias ocorrem simultâneas às alterações hepáticas, sendo que após terapia antiviral essas alterações regredem comprovando a participação viral na doença renal (LUCILA *et al.*, 1999).

2.5.2 Injúria renal aguda (IRA)

O termo Injúria Renal Aguda (IRA) é usado para descrever qualquer fenômeno no qual a função renal é subitamente atingida. Pode ocorrer na ausência de doença renal precedente e pode ser acompanhada de anúria, oligúria (volume urinário inferior a 400 mL/dia) ou ainda da manutenção de uma eliminação urinária normal ou aumentada. Em todo caso a abrupta redução da função renal caracteriza-se por uma crescente uremia e queda na depuração da creatinina endógena (BARROS, 2006).

Várias são as causas de IRA, entre elas infecções virais. Em um estudo realizado por Sevigani e colaboradores em 2009, demonstrou que após a infecção pelo vírus H1N1, os pacientes estudados evoluíram para formas graves de IRA.

Os achados urinários mais comuns incluem: proteinúria, hemoglobinúria, células do epitélio tubular renal, cilindros de vários tipos entre eles, cilindros epiteliais e leucocitários e cristais. Ocorre falha na capacidade de concentração da urina pelos rins, que produz uma urina isotenúrica. A ureia e creatinina plasmáticas encontram-se elevadas com diminuição da depuração da creatinina urinária (STRASINGER, 2009; MUNDT, 2011).

2.5.3 Doença renal crônica (DRC)

Constitui a fase final de evolução de muitas nefropatias e se caracteriza por desarranjos da função renal em todos os aspectos. A uremia crônica é característica de seu estágio terminal e pode ocasionar outros sintomas entre eles: anemia, osteodistrofia renal e neuropatia periférica. Um diagnóstico de DRC depende de esta ser consequência de uma lesão renal duradoura e progressiva e, mais provavelmente irreversível. Seu período de evolução varia de meses a anos (ROBINSON, 1986; BARROS, 2006).

Ocorre elevação dos níveis séricos de ureia e creatinina e diminuição da depuração da creatinina endógena. Os achados urinários incluem: proteinúria, hemoglobinúria, cilindros céreos e cristais (MUNDT, 2011; SPINELLI *et al.*, 2013).

A DRC constitui hoje um importante problema de saúde pública. A sua forma mais avançada, a Insuficiência Renal Crônica Terminal, e consequente instituição de terapia substitutiva renal através de diálise e transplante renal, vêm apresentando uma incidência e prevalência crescente nos últimos anos (AVENDAÑO, 2009).

A DRC é um grande multiplicador de riscos em pacientes com diabetes, hipertensão, doença cardíaca e acidente vascular cerebral, sendo essas as principais causas de incapacidade e morte em pessoas mais idosas. A Taxa de Filtração Glomerular declina de acordo com o avanço da idade, com o atual envelhecimento da população o número de pacientes com DRC vem crescendo ano a ano (TONELLI E RIELLA, 2014).

O censo da Sociedade Brasileira de Nefrologia, realizado em 2013, apontou um número total de 100.397 pacientes em terapia dialítica. A faixa etária compreendida dos 19 aos 64 anos corresponde a 58 % dos pacientes (CENSO SBN, 2014).

O diagnóstico precoce e o encaminhamento imediato ao nefrologista são etapas essenciais no manuseio dos pacientes com DRC. Apesar dos critérios diagnósticos da DRC estarem agora mais claros, a proporção de pacientes com DRC em estágio avançado que são vistos pela primeira vez pelo nefrologista imediatamente antes do início do tratamento dialítico ainda é inaceitável (GOMES E MASTROIANNI, 2011).

A análise microscópica da urina fornece informações valiosas no diagnóstico precoce da Doença Renal Crônica. As hemácias dismórficas, de origem glomerular, e os cilindros hemáticos são encontrados nos casos de nefrite. Corpúsculos gordurosos ovais, cilindros adiposos e partículas de gordura livres são achados nos casos de nefrose. Cilindros são observados nos casos de doença glomerular e vasculite renal, mas não na doença intersticial. Outros achados, tais como: cilindros hialinos, cilindros céreos e células do epitélio tubular renal, são achados inespecíficos de doença renal e devem ser avaliados pelo nefrologista (GRAVES, 2008).

2.5.4 Síndrome nefrótica

Esta síndrome é consequência de uma proteinúria intensa e constante (maior que a 3,0 a 3,5 g/dia). Caracteriza-se por edema periférico, proteinúria intensa, hipoalbuminemia e hiperlipidemia, ocorrendo em todos os grupos etários e em muitos quadros clínicos. O exame da urina apresenta proteinúria intensa, formada principalmente por albumina, que se encontra diminuída no plasma sanguíneo (ROBINSON, 1986).

Eritrócitos, células do epitélio tubular renal, corpúsculos gordurosos ovais, bolhas de gordura e cilindros graxos e céreos são os achados urinários mais comuns (MUNDT, 2011; SPINELLI *et al.*, 2013).

2.5.5 Infecção do trato urinário (ITU)

É mais comum de todas as síndromes renais. Ela é consequência da presença de numerosas bactérias patogênicas no trato urinário, geralmente Gram negativas oriundas do trato gastrointestinal. Suas manifestações clínicas são variadas podendo variar desde uma infecção assintomática do trato urinário até aquelas de um processo infeccioso destrutivo do parênquima renal levando a insuficiência renal crônica (ROBINSON, 1986; BARROS, 2006).

É comum tanto em pacientes ambulatoriais quanto nos hospitalizados e de todas as faixas etárias. É particularmente frequente nas mulheres jovens sexualmente ativas. Nas gestantes, a ITU ocorre devido às alterações fisiológicas como a dilatação do sistema coletor renal e do aumento do crescimento bacteriano devido a alterações na composição urinária, sendo que a bacteriúria está relacionada com a maior morbi-mortalidade materna e fetal e com a prematuridade. Nos homens adultos é mais frequente a partir dos 40 anos de idade devido geralmente às alterações prostáticas, sendo que a prostatite é a causa mais comum de infecções recorrentes. A infecção urinária simples está relacionada a pacientes HIV positivos e aos homossexuais (BARROS, 2006).

Geralmente a urina é estéril, entretanto um grande número de bactérias pode se multiplicar na urina sem dar origem a sintomas (bacteriúria assintomática). A infecção pode ficar limitada ao desenvolvimento bacteriano na urina, ou pode haver bacteriúria com infecção tecidual silenciosa, ou com sinais e sintomas inflamatórios de infecção na bexiga (cistite), na próstata (prostatite) e no rim (pielonefrite) (KUNIN, 1986; BARROS, 2006).

Alguns fatores relacionados às bactérias predispoem ao desenvolvimento e recorrência da infecção do trato urinário, entre elas estão a colonização periuretral e virulência da bactéria. Cepas uropatogênicas derivadas da microbiota fecal apresentam características que permitem a aderência, crescimento e resistência às defesas do hospedeiro, resultando em colonização e infecção do trato urinário baixo e alto (ZUNINO, 2012).

A via mais comum de infecção é a ascendente, sendo que a via hematogênica pode ocorrer quando houver infecção sistêmica por certos microrganismos invasivos tais como o *Staphylococcus aureus* (ZUNINO, 2012).

Entre os fatores moduladores do risco de desenvolvimento de infecção do trato urinário estão:

- 1) comportamentais – atividade sexual, espermicidas, uso recorrente de antibióticos, obstipação intestinal, hábitos miccionais inadequados;
- 2) genéticos- aumento de aderência à célula epitelial, fatores antibacterianos na urina e mucosa vesical, antígenos não secretores do grupo ABO, cistite recorrente prévia;
- 3) biológicos- menopausa, resposta imune e inflamatória, constituintes urinários, patógenos incomuns;
- 4) estruturais- condições congênitas e adquiridas que promovem estase urinária (ZUNINO, 2012).

Infecções causadas por *Mycobacterium tuberculosis* no trato genitourinário são a terceira forma mais comum de tuberculose extra-pulmonar. O diagnóstico de tuberculose renal é suspeito nos casos de cistite não específica com cultura bacteriana negativa e leucocitúria persistente sem bacteriúria. A tuberculose renal pode levar a um quadro de glomerulonefrite aguda. Esses casos se não tratados evoluem para Doença Renal Crônica. (NEIBERG et al., 2012; SUN et al., 2012)

Fungos do gênero *Candida* de espécies não albicans vem se tornando patógenos emergentes do trato urinário, principalmente em pacientes gravemente enfermos e que fizeram uso de antibioticoterapia ou que tiveram ITU prévia (OLIVEIRA, MAFFEI E MARTINEZ, 2001).

Os achados urinários variam conforme o sítio da infecção; na cistite ou infecção urinária baixa ocorre leucocitúria, bacteriúria, hematúria microscópica, proteinúria discreta e aumento no pH, a cultura de urina apresenta crescimento bacteriano (STRASINGER, 2009; MUNDT, 2011).

Na pielonefrite aguda ocorre a presença de cilindros leucocitários, cilindros bacterianos além dos achados urinários da cistite. Outros achados laboratoriais incluem aumento da ureia e creatinina plasmática com urocultura e hemocultura positivas (MUNDT, 2011).

A pielonefrite crônica diferencia-se da aguda pela presença de cilindros granulares, céreos, adiposos e largos. Ocorre incremento na proteinúria e queda na depuração da creatinina (MUNDT, 2011).

A nefrite intersticial aguda apresenta proteinúria, hematúria, leucocitúria, cilindros leucocitários e presença de eosinófilos na urina, que devem ser evidenciados através de coloração específica. Ureia e creatinina plasmáticas estão aumentadas com queda na depuração da creatinina (STRASINGER, 2009; MUNDT, 2011).

2.5.6 Obstrução do trato urinário

Pode ocorrer em qualquer local ao longo das vias do trato urinário, entre a pelve renal e a uretra. Entre as causas estão desde a urolitíase até tumores. Os sintomas são frequentemente caracterizados por um fluxo urinário lento, por gotejamento após o término da micção e por hesitação no seu início (ROBINSON, 1986).

2.5.7 Defeitos da função tubular

Abrange um conjunto de condições clínicas diferentes, muitas delas de origem familiar ou hereditária. Os defeitos da função tubular renal incluem acidose tubular renal (tanto proximal como distal), glicosúria renal, hipofosfatemia, aminoacidúria e hipouricemia, e diabetes insipidus nefrogênico. Resumindo esses defeitos refletem deficiências na secreção e/ou reabsorção tubular, ou mesmo na resposta tubular a sistemas de controle hormonais ou outros (ROBINSON, 1986).

2.6 ACHADOS URINÁRIOS: IMPORTÂNCIA E CORRELAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL

2.6.1 Hematúria

Conforme comentado anteriormente a membrana basal glomerular impede que moléculas de grande peso molecular e células sanguíneas sejam eliminadas através do filtrado plasmático. A hematúria pode ter origem em qualquer ponto do sistema urinário, desde os glomérulos até a uretra distal, assim a presença de eritrócitos na urina, situação denominada de hematúria, pode ser indicativa de lesão glomerular (BARROS, 2006).

É um achado comum na população adulta, com prevalência de 2,5% a 20% (MARGULIS E SAGALOWSKY, 2011), sendo a hematúria macroscópica, quando visível a olho nu, ou microscópica, quando a presença de hemácias é detectada apenas em microscopia.

Quando a hematúria é macroscópica e inicial (início da micção) sugere patologia da uretra, já quando é macroscópica e final (fim da micção) alerta para a possibilidade de patologia prostática ou vesical (BARROS, 2006).

Define-se hematúria como o achado de três ou mais eritrócitos por campo de grande aumento (400x) na microscopia (SOKOLOSKY, 2001). O American

Urological Association (AUA) guidelines, define hematúria microscópica significativa como o achado de três ou mais eritrócitos em campo de grande aumento em 2 ou 3 amostras de urina coletadas em um período de 2 ou 3 semanas (GROSSFELD *et al.*, 2001).

Muitas patologias estão relacionadas com a presença de eritrócitos na urina, entre elas o câncer de trato urinário (JUNG *et al.*, 2011), e a nefrolitíase (LUCHS *et al.*, 2002). Em pacientes pediátricos, a hematúria microscópica é mais comum que a hematúria macroscópica chegando a um índice de 4,1 por 1000 quando analisadas quatro amostras consecutivas de urina do mesmo paciente. A hematúria persistente foi reportada em 23 % das crianças com hematúria microscópica com avaliação de duas amostras e avaliações de mais duas amostras após um período de 4 a 6 meses. Realizada a biópsia renal, a Síndrome de Alport (nefrite hereditária) foi encontrada em 65 % dos casos. Nefropatia IgA ou Doença de Berger foi encontrada em 32 % dos casos. Em crianças com hemorragia macroscópica que realizaram biópsia renal, 30% apresentavam doença glomerular, outros 30 % tiveram achados normais na biópsia. As doenças glomerulares incluíam Nefropatia IgA (54%), Síndrome de Alport (25%) e glomerulonefrite aguda pós infecção (13 %). Os 40% restantes apresentavam hematúria de origem não glomerular sendo a etiologia mais comum a hipercalciúria (16%)(HICKS *et al.*, 2012).

Segundo o *National Collaborating Centre for Chronic Conditions* (NCC-CC, 2008) as causas mais comuns de hemorragia urológica são:

- a presença de cálculos (pedras) nos rins, ureteres e bexiga,
- infecções no trato urinário (uretrite, cistite e prostatite),
- câncer nos rins, ureteres, bexiga e próstata,
- tumores benignos (hemangiomas, angiomiolipomas e papilomas na bexiga),
- trauma.

Outras causas de hematúria são a hemorragia uretral e cistite hemorrágica (HICKS *et al.*, 2012).

O *Adenovírus* geralmente causa doenças respiratórias em crianças além de outras manifestações clínicas como quadros de cistite hemorrágica com hematúria macroscópica, especialmente em imunodeprimidos. Em pacientes pediátricos imunocompetentes com infecção adenoviral, a incidência de hematúria é de 18,6%

dos casos. Desses casos, 2,4% desenvolve hematúria macroscópica e acometimento do trato urinário alto causando glomerulonefrite (ALLEN E ALEXANDER, 2005).

A hematúria é observada após exercício físico vigoroso, assim como a proteinúria, sendo que após repouso essas alterações não são mais detectadas (RIBEIRO E MASTROIANNI, 2009).

A hemorragia glomerular pode ser ocorrer devido a doenças renais como a doença de Berger ou Nefropatia IgA, após infecções que afetam os glomérulos como as causadas por estreptococos, por infecções virais além de doenças sistêmicas como o lúpus. As alterações plaquetárias, conhecidas como púrpuras também podem levar a uma hemorragia glomerular (SOKOLOSKY, 2001).

Sendo assim, um fato importante a ser levado em conta nas rotinas de urina é que a microscopia urinária é o teste mais rápido e simples para distinguir entre uma hemorragia glomerular ou não glomerular (COHEN E BROWN, 2003; JIMBO, 2010). A presença de dismorfismo eritrocitário, cilindros eritrocitários e proteinúria, dá suporte a um diagnóstico de hematúria de origem glomerular (MARGULIS E SAGALOWSKY, 2011).

Em 1979, Birch e Fairley analisando o sedimento urinário em microscopia de contraste de fase, demonstraram a possibilidade de diferenciação entre hemorragia glomerular e não glomerular. Na hemorragia não glomerular, as hemácias caracterizavam-se pelo aspecto isomórfico, ou seja, todas tinham o tamanho e morfologia uniformes. Já na hemorragia glomerular as hemácias apresentavam um aspecto dismórfico, com alterações de forma, tamanho e presença de hemoglobina.

Em estudos subsequentes, Rizzoni e colaboradores em 1982 e Pillsworth e colaboradores em 1987, definem a microscopia de contraste de fase para definição de hematúria glomerular como um teste simples, de custo baixo e não invasivo, que permite a distinção entre hematúria glomerular e não glomerular em pacientes pediátricos, sendo que Pillsworth *et al.*, recomendam que por ser um procedimento de fácil execução a morfologia eritrocitária seja incorporada a rotina da urinálise.

Entre as diversas formas que os eritrócitos dismórficos podem apresentar os acantócitos ou células G1 são os tipos mais específicos para lesões glomerulares.

Inicialmente descritos por Kohler *et al*, 1991, os acantócitos são hemácias em forma de anel que possuem protusões citoplasmáticas vesiculares (Figura 4 e 5).

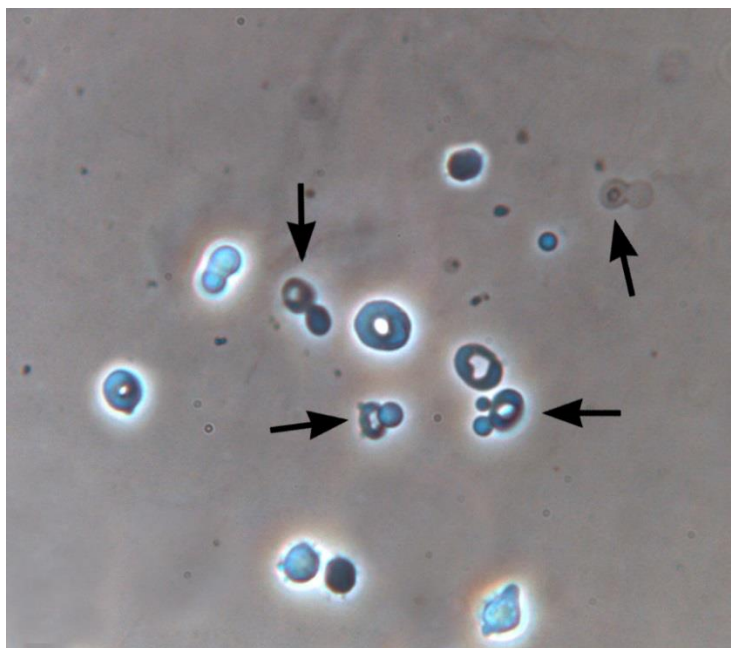


FIGURA 4 - AS SETAS INDICAM ACANTÓCITOS EM AMOSTRA DE URINA, MICROSCOPIA DE CONTRASTE DE FASE 400X
FONTE: (FOGAZZI, VERDESCA E GARIGALI, 2008)

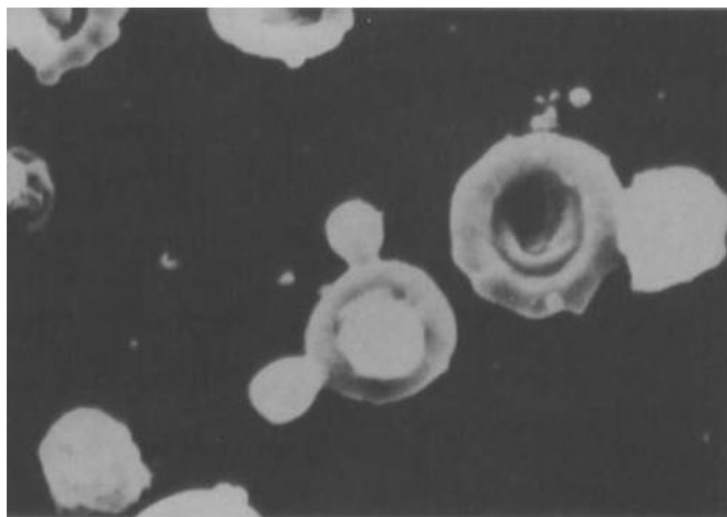


FIGURA 5: ACANTÓCITO EM AMOSTRA DE URINA, MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA, AUMENTO 5000X
FONTE: (WANDEL E KOHLER, 1998)

O mecanismo de deformação eritrocitária ainda não está bem elucidado, o trauma mecânico, alterações osmóticas e variações no pH, assim como liberação de mediadores químicos e enzimas digestivas, após lesão celular, encontrados nos

processos infecciosos e inflamatórios foram apontados como provável causa da deformidade das hemácias (VASCONCELLOS, 2005).

Kubota e colaboradores em 1988, ao realizarem ensaios em que eritrócitos atravessavam poros de 3 μm sob pressão, conseguiram reproduzir as alterações encontradas nas hemácias dismórficas. Essa experiência reforça a tese de que ao atravessarem a membrana basal glomerular pelos hiatos existentes entre seus capilares, os eritrócitos urinários sofreriam uma compressão importante e consequente deformação de sua membrana celular (FIGURA 6).

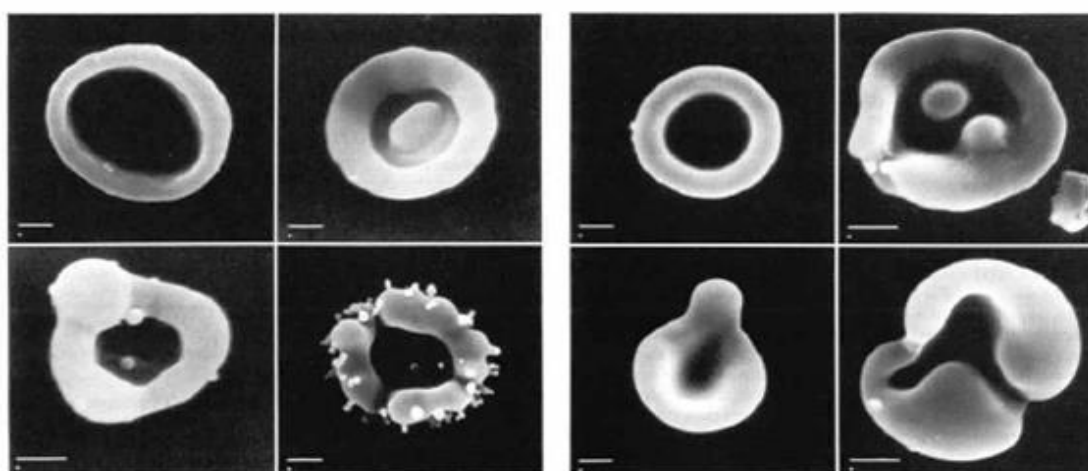


Fig. 1. Doughnut type of deformity in urinary red cells in a patient with chronic glomerulonephritis.

Fig. 2. Doughnut-type erythrocytes in our experiments.

FIGURA 6 – IMAGENS DO EXPERIMENTO DE KUBOTA *et al.*, 1988. A ESQUERDA ERITRÓCITOS DISMÓRFICOS EM AMOSTRA DE URINA, A DIREITA ERITRÓCITOS OBTIDOS NO EXPERIMENTO.

FONTE: (KUBOTA *et al.*, 1988)

Os acantócitos ou células G1 podem ser subdivididos em três categorias distintas: D1, D2 e D3. Células D1 e D2 correspondem aos acantócitos ou células G1, caracterizados por uma ou mais protusões citoplasmáticas, podendo-se compará-las a cabeça do personagem *Mickey Mouse*, com severa perda de coloração citoplasmática (D1) ou, com perda mediana da coloração citoplasmática (D2). Já as células D3 correspondem a todos os outros tipos de deformidade celular incluindo a forma de rosquinha, com presença de protusões e bolhas, mas com pouca perda da coloração citoplasmática (NAGAHAMA *et al.*, 2005).

Apesar de ser um achado característico de lesão glomerular, a presença de eritrócitos com formas aberrantes na urina pode ser característico de doenças sistêmicas, nesses casos os eritrócitos presentes na urina reproduzem sua condição na corrente sanguínea tais como, anisocitose e poiquilocitose achados comuns nas várias formas de anemia (FOGAZZI, CANT E GARIGALI, 2005).

A formação de “*roleaux*” entre os eritrócitos encontrados na urina pode estar relacionada com doenças malignas. A presença de paraproteínas excretadas na urina produz tal fenômeno (SAID, GRIFFITH E BAYLISS, 2011).

2.6.2 Leucócitos

Outro achado importante na microscopia do sedimento urinário são os leucócitos, células de defesa do sistema imunológico que estão presentes em processos inflamatórios e infecciosos. Essa situação é denominada leucocitúria ou piúria (STRASINGER, 2009; MUNDT, 2011).

As infecções do trato urogenital são a principal causa da leucocitúria, entre elas: cistite, pielonefrite, uretrite, prostatite, balanite e a síndrome uretral aguda. A leucocitúria também pode ser indicativa de vaginites, os fluidos vaginais podem ser carregados pela urina, principalmente nos casos em que os cuidados na coleta da urina não são observados (ITO, 2012).

Outras situações de leucocitúria são a glomerulonefrite proliferativa, a nefrite intersticial crônica e a cistite asséptica, nesses casos a bacteriúria pode estar ausente (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000).

A Síndrome Uretral Aguda caracteriza-se por um conjunto de manifestações clínicas indicativa de infecção urinária tais como, disúria (dor ao urinar) e poliaciúria (aumento na frequência das micções). Na microscopia urinária apresenta leucocitúria com ausência de bactérias. Essa síndrome geralmente se manifesta em mulheres jovens (HAUSER, STINGHEN, 2012).

Entre as outras causas de leucocitúria estéril estão as glomerulonefrites proliferativas, nefropatia tubulointersticial, estados febris em crianças, tuberculose renal, infecção por *Chlamydia sp.*, calculose das vias urinárias, processos inflamatórios perivesicais e pós-operatório de cirurgias prostatovesicais (BARROS, 2006).

Os neutrófilos são os leucócitos mais comumente encontrados na urina, lisam facilmente em urinas hipotônicas e alcalinas perdendo seus detalhes nucleares, absorvem água e incham. O movimento browniano dos grânulos dentro dessas células maiores produz uma aparência espumante, sendo essas células conhecidas como “*glitter cells*” ou “células brilhantes” (MUNDT, 2011).

A presença de eosinófilos na urina está, principalmente, associada à nefrite intersticial induzida por drogas, podendo um pequeno número estar presente nos casos de infecção do trato urinário, prostatites e na rejeição do transplante renal. A

evidenciação dessas células é realizada quando utilizados os corantes de Hansel e de Wright (STRASINGER, 2009; MARTÍN-MORENO, 2011).

As células mononucleares de defesa: linfócitos, monócitos, macrófagos e histiócitos podem estar presentes em menor número, sendo que, geralmente não são identificadas nas preparações urinárias a fresco. Macrófagos, monócitos e histiócitos são células com tamanho (15 a 100 μm) e aparência variáveis: gordurosos ou corpúsculos gordurosos ovais, com citoplasma granular, vacuolar e fagocítico ((FOGAZZI, VERDESCA E GARIGALI, 2008).

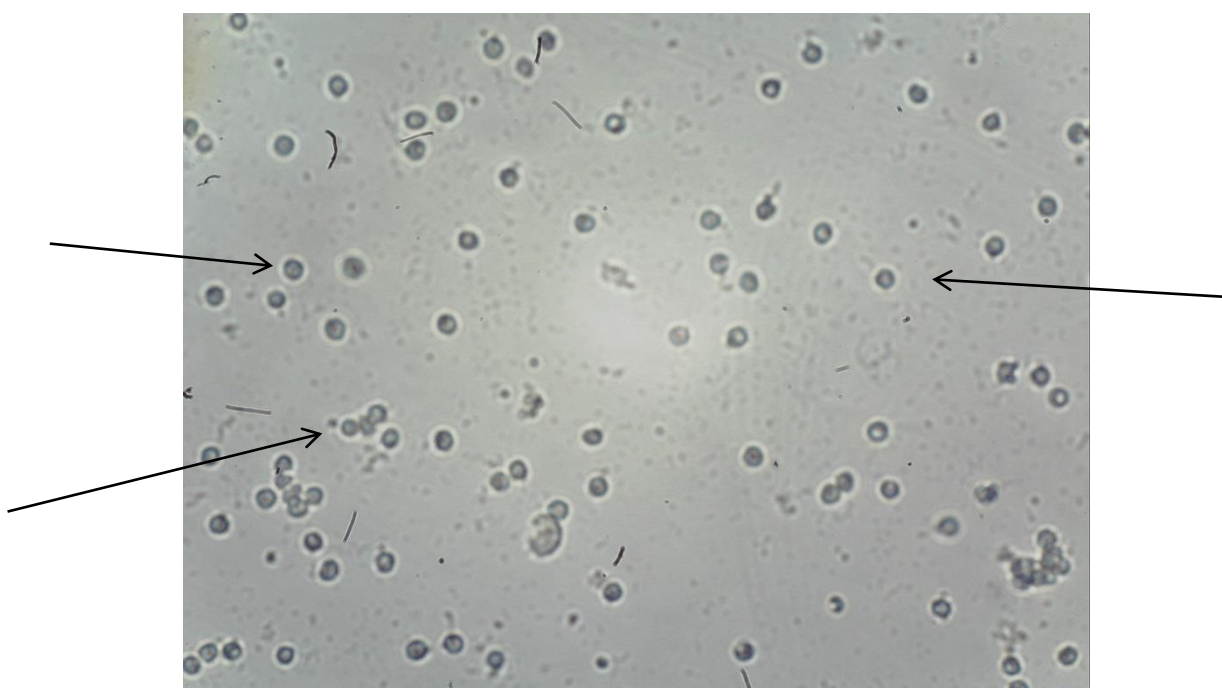


FIGURA 7 – AS SETAS INDICAM LEUCÓCITOS EM AMOSTRA DE URINA, MICROSCOPIA CONVENCIONAL, EXAME A FRESCO (AUMENTO 100X)
FONTE: O AUTOR



FIGURA 7 - HISTIÓCITO COM ASPECTO CITOPLASMÁTICO GORDUROSO. MICROSCOPIA CONVENCIONAL, EXAME A FRESCO (AUMENTO 400X)
FONTE: O AUTOR

2.6.3 Células Epiteliais

As células epiteliais encontradas na urina podem ser originárias de qualquer tecido do trato genitourinário, desde o túbulo convoluto proximal até a uretra, ou da vagina. Geralmente algumas células encontradas na urina são resultado da descamação normal de células velhas que ocorrem em alguns tecidos. Três tipos de células são observados, escamosas, uroteliais (transição) e tubulares renais (STRASINGER, 2009; MUNDT, 2011).

As células epiteliais tubulares renais são ligeiramente maiores que os leucócitos (11 a 15 μm), variam em tamanho e forma dependendo da área dos túbulos renais da qual são originárias. Células do túbulo convoluto proximal são maiores e tendem a ter um formato retangular, são referidas como colunares ou convolutas. Células do túbulo contornado distal são menores que as do túbulo contornado proximal e são redondas ou ovais, podendo ser confundidas com leucócitos ou células transicionais esféricas. Células oriundas do ducto coletor são

cuboides e nunca redondas, possuem núcleo excêntrico e de pelo menos uma borda reta, essas características as diferenciam das células transicionais, que podem ser poliédricas ou esféricas. As células tubulares renais são as mais significativas clinicamente, a presença de um número aumentado dessas células é indicativa de necrose dos túbulos renais, nefrite intersticial aguda e rejeição a transplante renal, quando encontradas em pequeno número são indicativas de doenças glomerulares proliferativas (FOGAZZI, VERDESCA E GARIGALI, 2008).

As células uroteliais, ou transicionais, são provenientes do revestimento da pelve renal, do cálice, dos ureteres e da bexiga, e ainda da porção superior da uretra masculina. Na urina são encontrados dois tipos de células uroteliais, as oriundas de porções mais profundas do tecido são menores (13 a 20 μm), as células das camadas mais superficiais são maiores (20 a 40 μm). Células das camadas mais superficiais são encontradas nos casos de infecções urinárias, já as células das camadas mais profundas são encontradas nos casos de doença urogenital como carcinoma de bexiga, pedras nos ureteres e hidronefrose (FOGAZZI, VERDESCA E GARIGALI, 2008; STRASINGER, 2009).

Células epiteliais escamosas são facilmente reconhecidas por seu grande tamanho (45 a 65 μm) e forma irregular. Elas contêm um núcleo picnótico com abundante citoplasma. São oriundas da uretra e da genitália externa, principalmente da vulva e vagina. Quando encontradas em grande número em associação com leucócitos e bactérias, é indicativo de contaminação com secreções genitais, principalmente nos casos de vaginites (FOGAZZI, VERDESCA E GARIGALI, 2008; MUNDT, 2011).



FIGURA 9 - PRESENÇA DE CÉLULAS EPITELIAIS TRANSICIONAIS (CET), CÉLULAS EPITELIAIS DESCAMATIVAS (CED) E LEUCÓCITOS (LEU) EM MICROSCOPIA CONVENCIONAL. EXAME A FRESCO (AUMENTO 100X)
FONTE: O AUTOR

2.6.4 Cilindros

Os cilindros são os únicos elementos encontrados na urina exclusivos dos rins (Strasinger, 2009). São formados no lúmen dos túbulos renais devido a precipitação ou gelatinização da mucoproteína de Tamm-Horsfall. Os fatores que envolvem sua formação incluem: estase renal (diminuição acentuada no fluxo renal), acidez aumentada, concentração alta de solutos e presença anormal de íons ou constituintes proteicos. A formação dos cilindros usualmente ocorre nos túbulos distais devido à máxima concentração e acidez da urina (MUNDT, 2011).

A presença de inclusões nos cilindros é indicativa de várias patologias renais.

Cilindros hemáticos são indicativos de hematúria renal, e podem ser encontrados nas glomerulonefrites agudas, nefrite lúpica, síndrome de Goodpasture, endocardite bacteriana e trauma renal. Também são encontrados no infarto renal, pielonefrite severa, trombose da veia renal e periarterite nodosa (MUNDT, 2011).

Cilindros leucocitários são encontrados na infecção renal e na inflamação não infecciosa. Eles são achados comuns na pielonefrite, nefrite intersticial e nefrite lúpica (MUNDT, 2011).

Cilindros granulados são resultado da degeneração de cilindros celulares ou representam a agregação de proteínas séricas na matriz mucoproteica de Tamm-Horsfeld, são indicativos de várias patologias renais, mas podem ser encontrados após exercício físico vigoroso (MUNDT, 2011).

Cilindros hialinos são os mais comumente encontrados, aparecem incolores em sedimentos não corados. Encontra-se em número aumentado na glomerulonefrite aguda, pielonefrite, doença renal crônica e insuficiência cardíaca congestiva. Podem ser encontrados após exercício físico intenso e após desidratação (STRASINGER, 2009; MUNDT, 2011).

Os cilindros de células epiteliais são resultantes da estase e descamação do epitélio tubular renal. Semelhantes às células do epitélio tubular renal estão associados com metais pesados, substâncias químicas ou toxicidade induzida por drogas, infecções virais e rejeição de aloenxerto. Nos casos de pielonefrite são encontrados juntamente aos cilindros leucocitários (STRASINGER, 2009; MUNDT, 2011).

Os cilindros céreos são encontrados na estase urinária extrema, situação indicativa de insuficiência renal além de várias formas de doença glomerular (SPINELLI *et al.*, 2013). Geralmente são encontrados em conjunto com outros tipos de cilindros relacionados à condição que tenha causado a falência renal. Por terem um índice refratométrico alto são mais facilmente visualizados que os cilindros hialinos. Como resultado da baixa consistência da matriz do cilindro, muitas vezes, estes aparecem fragmentados, com extremidades irregulares e com entalhes em suas faces (STRASINGER, 2009).

Cilindros adiposos têm incorporado em seu interior partículas livres de gordura ou corpúsculos gordurosos ovais. Para confirmação da presença das partículas gordurosas de colesterol faz-se uso de microscopia de luz polarizada,

onde essas partículas apresentam a característica de “Cruz de Malta”. Já as partículas gordurosas compostas de triglicerídeos não apresentam esta característica, mas podem evidenciadas pelo corante Sudan III (MUNDT, 2011).

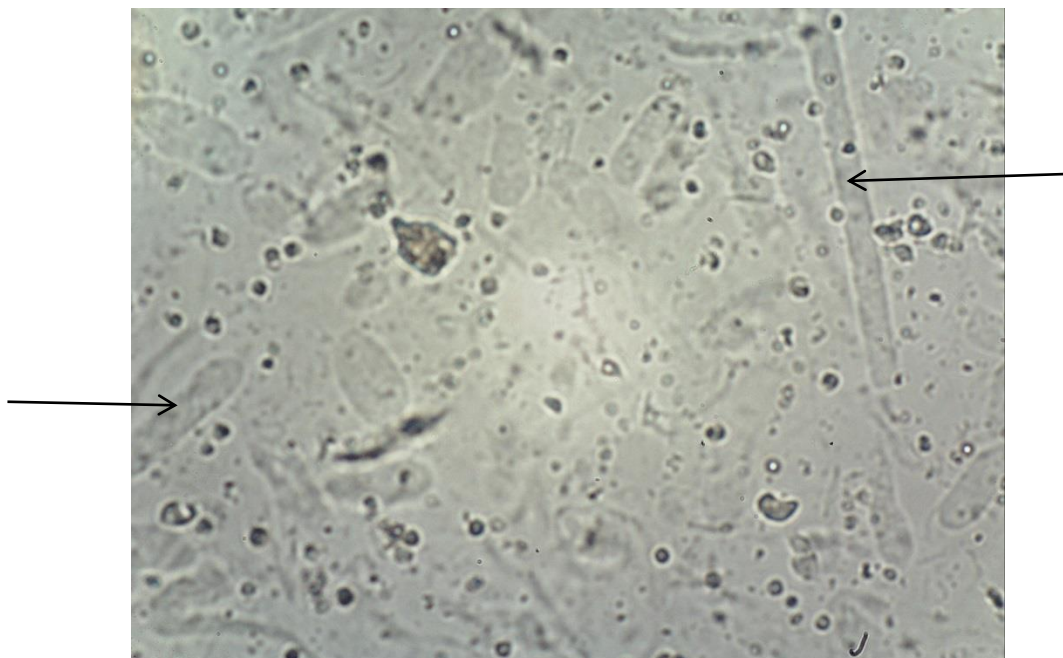


FIGURA 10 - PRESENÇA DE CILINDROS HIALINOS EM AMOSTRA DE URINA, MICROSCOPIA CONVENCIONAL, EXAME A FRESCO (AUMENTO 100X).
FONTE: O AUTOR



FIGURA 11 - PRESENÇA DE CILINDRO GRANULOSO CONVOLUTO EM AMOSTRA DE URINA, MICROSCOPIA CONVENCIONAL EXAME A FRESCO (AUMENTO 100X)
FONTE: O AUTOR

2.7 Metodologias Aplicadas À Análise Da Urina

Segundo o *Clinical Laboratory Standards Institute*, (CLSI, 2001), a uroanálise consiste de avaliação macroscópica (cor e aspecto), avaliações químicas (tira reativa) e análise microscópica. Sendo que os pontos a serem analisados deverão ser decididos por cada laboratório, dependendo da população a ser atendida.

A análise da urina é uma ferramenta diagnóstica não invasiva e que deve ser realizada em todos os pacientes com suspeita de enfermidades renais. Entre as vantagens estão o resultado imediato, o baixo custo e a ausência de invasividade. A experiência do observador e a qualidade da amostra são fundamentais para a eficiência da análise (MARTÍN-MORENO, 2011).

Para a coleta da amostra devem ser observados alguns cuidados:

- 1- analisar a primeira urina da manhã ou ao menos com 3 horas sem urinar;
- 2- evitar exercício físico nas últimas 72 horas;
- 3- não coletar urina nas 24 horas posteriores à administração de contrastes iodados;
- 4- evitar coletar urina no período menstrual;
- 5- usar tampão interno no caso de secreção vaginal intensa, para evitar contaminação;
- 6- lavar as mãos e os genitais externos antes da coleta da amostra;
- 7- coletar o jato médio urinário desprezando o jato inicial e o jato final;
- 8- analisar a amostra até duas horas após a coleta (Martín-Moreno, 2011)

2.7.1 Avaliação Físico-Química da Urina

2.7.1.1 Avaliação Física

A avaliação física consiste na determinação da cor e do aspecto da urina. Em relação ao volume urinário, este só se faz importante em coletas de urina de 24 horas. A determinação do odor da urina, não é realizada na prática laboratorial de rotina, lembrando que a principal causa de alteração no odor urinário é a produção de amônia pelas bactérias causadoras de infecções urinárias. Alguns distúrbios patológicos raros podem levar a alterações no odor da urina tais como: odor de pés suados na acidemia isovalérica ou acidemia glutárica; odor de xarope de bordo na doença urinária com o mesmo nome; odor de repolho ou lúpulo na má absorção da metionina; odor de bolor na fenilcetonúria; odor de peixe podre na trimetilaminúria e rançoso na tirosinemia (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000; FOGAZZI, VERDESCA E GARIGALI, 2008). Se estas situações forem verificadas na rotina da urina, devem ser relatadas como observação no laudo.

A cor normal da urina, amarela-citrino, é causada pela presença de um pigmento que Thudichum chamou de urocromo em 1864. Tal pigmento é produto do metabolismo endógeno, que em condições normais é produzido pelo organismo numa taxa constante. A uroeritrina e a urobilina são dois outros pigmentos presentes na urina, mas que contribuem pouco para a coloração da urina recém-coletada. A uroeritrina é um pigmento róseo que nas amostras refrigeradas se liga ao urato formando um precipitado característico de cor rósea. Já a urobilina é um produto da oxidação do urobilinogênio, que é um constituinte normal da urina, confere uma coloração castanho-alaranjada nas amostras de urina após algum tempo da coleta (STRASINGER, 2009).

A avaliação da cor da amostra de urina é baseada nos sentidos humanos e a terminologia adotada varia entre os laboratórios, mas para fins de padronização se faz necessária a utilização de termos únicos para colorações normais e que variam apenas em relação à concentração de urocromo: amarelo-claro, amarelo-citrino ou amarelo-escuro. As urinas que apresentam colorações anormais geralmente estão

relacionadas com processos patológicos, excreção de drogas ou a alimentação (FOGAZZI, VERDESCA E GARIGALI, 2008).

Amostras de urina com coloração amarelo-claro estão relacionadas com amostras diluídas ou em indivíduos com poliúria. Ainda com a ingestão aumentada de líquidos, ingestão de álcool ou uso de medicamentos diuréticos (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000). As colorações mais escuras, amarelo-escuro ou âmbar, estão relacionados com amostras concentradas, presença aumentada de urobilinogênio, bilirrubina ou ingestão de alimentos tais como os ricos em caroteno (cenoura, mamão e ruibarbo) e ainda à excreção de algumas drogas como nitrofurantoína e fenazopiridina (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000; MUNDT, 2011).

A coloração vermelha ou marrom pode ser indicativa de hematúria ou hemoglobinúria. A presença de mioglobina, porfirinas e de algumas drogas tais como L-Dopa, metronidazol e cloroquina também podem causar tal alteração na cor (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000). As colorações esverdeadas são características de uso de antissépticos urinários a base de azul de metileno, e ainda por infecções urinárias causadas por *Pseudomonas aeruginosa* (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000).

Em relação ao aspecto a urina normalmente é límpida. A turbidez da amostra geralmente é causada pelo aumento da concentração de partículas, especialmente, eritrócitos, leucócitos, células epiteliais, bactérias e cristais. A presença de muco e células descamativas pode tornar a amostra opalescente, mas com resultados analíticos normais. Em amostras refrigeradas pode ocorrer a precipitação de cristais de urato, caracterizados pela coloração rósea, que se dissolvem após aquecimento (FOGAZZI, VERDESCA E GARIGALI, 2008).

O desenvolvimento bacteriano em amostras mal conservadas pode levar a uma turvação da amostra, o que não representa a condição real da amostra (STRASINGER, 2009).

2.7.1.2 Avaliação química

Densidade

A densidade pode ser determinada usando dois métodos diferentes: gravidade específica e osmolaridade (FOGAZZI, VERDESCA E GARIGALI, 2008).

A osmolaridade é método padrão ouro, pois depende apenas do número de partículas dissolvidas, independentemente do seu tamanho. É o melhor indicador das habilidades de concentração e diluição dos rins, pois não sofre influências da concentração de moléculas de glicose, proteínas, dextram e de contrastes radiológicos. Historicamente a osmolaridade requer mais tempo e equipamentos mais sofisticados quando comparados com a gravidade específica, dessa forma não é um procedimento de rotina nos laboratórios de análises clínicas (MUNDT, 2011).

A gravidade específica ou densidade é a determinação da quantidade de partículas dissolvidas na amostra quanto ao seu número e peso. Sendo assim pode ser influenciada pelo tamanho das moléculas que estão presentes na amostra. A gravidade específica é definida como densidade de uma solução quando comparada com a densidade de um volume similar de água destilada (FOGAZZI *et al.*, 2008).

Os valores normais estão definidos entre 1,003-1,035, sendo que em casos de hidratação excessiva podem ocorrer leituras muito baixas, em torno de 1,001. Os valores da gravidade específica variam conforme o estado de hidratação e do volume urinário produzido, sendo de grande utilidade para avaliarmos a reabsorção renal. A densidade do plasma filtrado que entra no glomérulo é 1,010. Amostras de urina com densidade abaixo de 1,010 são hipostenúricas e amostras com valores acima de 1,010 hiperstenúricas. Os casos de hipostenúria estão relacionados com distúrbios na concentração urinária. Já as causas de hiperstenúria incluem a desidratação, glicosúria, proteinúria, eclampsia, insuficiência cardíaca, estenose renal, síndrome da secreção inapropriada do hormônio antidiurético, nefrose lipídica e restrição hídrica (MUNDT, 2011).

Em pacientes que receberam contrastes radiológicos, dextram ou outros expansores de plasma por via endovenosa, os valores da densidade podem chegar a níveis acima de 1,035. Após a depuração dessas substâncias do organismo os valores retornam a níveis normais (CLSI, 2001; STRASINGER, 2009).

Entre os métodos utilizados para a determinação da gravidade específica está o uso de urodensímetro (obsoleto), refratômetro, densitometria por oscilação harmônica e de tiras reativas. O primeiro, por ser menos exato quando comparado a outros métodos, não é mais recomendado pelo CLSI (CLSI, 2001; STRASINGER, 2009).

O refratômetro mede o índice de refração, que é uma comparação da velocidade da luz no ar com a velocidade da luz em uma solução (STRASINGER, 2009).

A densitometria por oscilação harmônica se baseia no princípio de que a frequência de uma onda sonora que entra numa solução muda na proporção da densidade da solução. Apesar de não ser utilizado na rotina, está presente em alguns equipamentos automatizados (STRASINGER, 2009; MUNDT, 2011).

O método mais comumente usado é o das tiras reativas. Baseia-se na mudança do pKa (constante de dissociação) de um polieletrólito em meio alcalino, que quando ionizado libera íons de hidrogênio na proporção de íons da solução. Quanto maior a concentração de íons menor o pH, devido a liberação de íons hidrogênio. O corante azul de bromotimol incorporado à almofada reagente mede a variação do pH na reação. Quando a gravidade específica aumenta o indicador muda de azul (1,000, pH alcalino), para tons de verde até amarelo (1,030, pH ácido) (STRASINGER, 2009).

É um método que não detecta moléculas não ionizadas como glicose e uréia, por isso apresenta baixa correlação quando comparado aos resultados obtidos por refratometria e osmolaridade (CLSI, 2001; FOGAZZI, VERDESCA E GARIGALI, 2008).

pH

Os rins juntamente com os pulmões são os principais reguladores do conteúdo ácido-básico do organismo. A manutenção do pH sanguíneo, em torno de 7,4, faz com que os rins variem o pH urinário compensando a dieta e os produtos do metabolismo. A regulação ocorre na porção distal do néfron com a secreção tanto de íons hidrogênio como de amônia para o filtrado urinário, e a reabsorção de bicarbonato (MUNDT, 2011).

Devido ao metabolismo o pH urinário normalmente é ligeiramente ácido (5,5 a 6,5), podendo variar com a dieta. A ingestão de proteínas tende a acidificar a urina, já a ingestão de vegetais tende a alcalinizar a urina (ITO, 2012). O pH ácido da urina é um dos fatores que evitam a multiplicação da maioria das bactérias no trato urinário (ZUNINO, 2012).

Valores de pH superiores a 5,0 são encontrados nos casos de Acidose Tubular Renal (ATR). Nos casos de ATR distal os valores são sempre superiores a 5,5 já que ocorre uma incapacidade de aumentar a excreção de íons Hidrogênio. Na ATR proximal os valores podem ser menores que 5,5 (AVENDAÑO, 2009).

A determinação do pH é um auxílio na determinação de distúrbios ácido-básico de origem metabólica ou respiratória e na gestão das condições urinárias que requerem que a urina seja mantida em determinado pH. Ou ainda nos casos de acidificação ou alcalinização da urina associada com doenças específicas, como a acidose tubular renal, ou a nefrolitíase (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000).

A primeira amostra da manhã é usualmente ácida, sendo que após as refeições o pH torna-se alcalino. Nas crianças a urina é muitas vezes alcalina. Nos processos infecciosos bacterianos, ocorre aumento na concentração de amônia devido ao metabolismo da ureia pelas bactérias, elevando o pH. O pH alcalino faz com que elementos urinários sejam degradados, como os leucócitos e os cilindros, impossibilitando sua visualização (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000).

O método mais comum de determinação do pH urinário é através de tiras reativas. As tiras reativas possuem um sistema de dois indicadores, vermelho de metila e azul de bromotimol, que podem determinar o pH entre 5,0 e 9,0. O vermelho de metila produz mudança da cor vermelha para amarela na faixa de pH entre 4,0 e 6,0, já o azul de bromotimol vira de amarelo para azul na faixa de pH entre 6,0 e 9,0 (STRASINGER, 2009).

Proteínas

As proteínas totais presentes na urina são uma mistura de proteínas de alto peso molecular como: albumina, transferrina, imunoglobulinas intactas, α_2 macroglobulina; e de proteínas de baixo peso molecular como: α_1 microglobulina, proteína carreadora de retinol e imunoglobulinas de cadeias leves, todas essas originárias do plasma sanguíneo; proteínas de origem renal como a muco proteína Tamm-Horsfall de secreção tubular, além de outras proteínas originárias do trato urinário (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000).

A presença de proteínas na urina geralmente é da ordem de 150 mg nas 24 horas. A albumina sérica é a principal proteína encontrada na urina normal, mesmo tendo alta concentração sérica, sua concentração urinária é baixa visto que a maior parte da albumina não é filtrada nos glomérulos, e que as moléculas filtradas acabam sendo reabsorvidas pelos túbulos (STRASINGER, 2009).

O princípio da tira reativa consiste no erro proteico dos indicadores para produzir uma reação colorida visível, contrário à crença de que indicadores produzem cores específicas em resposta a determinados pHs, alguns indicadores mudam de cor na presença de proteína. A presença de proteína em um tampão causa a mudança de pH proporcional a concentração de proteína presente. A mudança de cor na tira reativa varia de um verde pálido a intenso e azul de acordo com a variação de pH induzida pela concentração de proteína. Tal método é sensível a concentrações de albumina a partir de 0,020 a 0,025 g/dL. O teste é mais sensível à albumina, pois essa contém mais grupamentos amino para receber íons

hidrogênio do indicador comparado a outras proteínas (FOGAZZI, VERDESCA E GARIGALI, 2008; STRASINGER, 2009).

O uso da tira reativa para a detecção da proteinúria apresenta algumas vantagens como: facilidade de uso, baixo custo e acessibilidade a praticamente todos os laboratórios. As limitações são: a baixa sensibilidade às proteínas tubulares e a imunoglobulinas de cadeia leve; o alto limiar inicial de detecção da albumina e é um método semiquantitativo, inexato para monitorar a proteinúria (FOGAZZI, VERDESCA E GARIGALI, 2008).

Glicose

Em circunstâncias normais, praticamente toda a glicose filtrada no glomérulo é reabsorvida no túbulo contornado proximal, assim sendo a quantidade de glicose presente na urina é mínima. Essa reabsorção tubular ocorre por transporte ativo em resposta às necessidades do organismo. Nos casos em que a glicose plasmática se torna elevada, esse transporte ativo não é realizado e ocorre a liberação de glicose para a urina. O limiar de reabsorção tubular se situa entre 160 a 180 mg/dL de glicose plasmática (STRASINGER, 2009).

Nas tiras reativas o método mais comumente utilizado é o da glicose oxidase, onde a zona de reação é impregnada com uma mistura de glicose oxidase, peroxidase, cromógeno e tampão para produzir uma reação sequencial. Em uma primeira etapa, glicose oxidase catalisa a reação entre glicose e o ar ambiente para produzir ácido glucônico e peróxido. Na segunda etapa a peroxidase catalisa a reação entre peróxido e cromógeno para formar um composto oxidado colorido, representando a presença de glicose na amostra. Resultados falsos-negativo ocorrem na presença de agentes redutores como o ácido ascórbico, que impede a oxidação do cromógeno e bactérias; e resultados falso-positivos na presença de detergentes oxidantes e ácido clorídrico (FOGAZZI, VERDESCA E GARIGALI, 2008; STRASINGER, 2009).

Corpos Cetônicos

São representados por três produtos intermediários do metabolismo das gorduras: acetona, ácido acetoacético e ácido β -hidroxibutírico. Em condições normais a presença de corpos cetônicos não é detectada na urina, visto que toda gordura metabolizada é decomposta em gás carbônico e água, mas quando o metabolismo de carboidratos está comprometido o organismo faz uso da gordura corporal como fonte de energia, nesses casos ocorre a detecção de corpos cetônicos na urina (STRASINGER, 2009).

A acidose diabética, exercícios físicos extenuantes, jejum prolongado, inflamações entéricas e vômito, são algumas das condições em que os corpos cetônicos são detectados na urina (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000).

Para detecção dos corpos cetônicos utiliza-se o nitroprussiato de sódio. Nessas condições, o ácido acetoacético em meio alcalino, reage com o nitroprussiato de sódio produzindo uma cor púrpura. Essa reação não mede o ácido β -hidroxibutírico e é pouco sensível à acetona (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000; STRASINGER, 2009).

Bilirrubina e Urobilinogênio

A bilirrubina é um pigmento complexo resultante da degradação da hemoglobina. Sua detecção na urina pode indicar precocemente uma doença hepática, mesmo antes do desenvolvimento de icterícia. Durante o processo de degradação da hemoglobina, esta é decomposta em ferro, proteínas e protoporfirina convertida em bilirrubina. A bilirrubina livre cai na corrente circulatória ligando-se à albumina, insolúvel em água e, portanto não excretada por via renal. No fígado a bilirrubina livre é conjugada ao ácido glucurônico pela ação da glucuronil transferase, tornando-se hidrossolúvel. A bilirrubina diglucuronide (conjugada) é liberada do fígado para o ducto biliar, indo parar na luz intestinal onde bactérias irão reduzir a

bilirrubina em urobilinogênio e estercolbilinogênio, que serão oxidados e eliminados nas fezes na forma de urobilina (STRASINGER, 2009).

A detecção da bilirrubina conjugada na urina é resultante de transtornos na sua liberação para os intestinos, devido à obstrução do ducto biliar causada por cálculos biliares ou tumores, além da perda de integridade hepática que pode permitir o refluxo da bilirrubina conjugada para a circulação. Cirrose hepática e hepatite são condições que produzem dano hepático resultando em bilirrubinúria (STRASINGER, 2009).

A reação de sais de diazônio em meio ácido é a mais comumente encontrada nas tiras reativas. A bilirrubina liga-se ao sal de diazônio formando um complexo de azobilirrubina de coloração castanha amarelada até violeta, dependendo da concentração na amostra (MUNDT, 2011).

Como visto anteriormente, o urobilinogênio é resultante da redução da bilirrubina pelo metabolismo das bactérias presentes no intestino. Uma parte do urobilinogênio formado é reabsorvida do intestino para o sangue, daí para o fígado onde é excretado para os intestinos via ducto biliar. O estercobilinogênio não é reabsorvido pelo intestino e é convertido em urobilina eliminada pelas fezes, conferindo coloração castanha característica. Uma pequena fração do urobilinogênio que se encontra na circulação é filtrado pelos glomérulos e normalmente detectado pela tira reativa na urina. Além de distúrbios hepáticos, o urobilinogênio pode ser encontrado em concentrações elevadas na urina nos processos hemolíticos. A correlação entre os achados urinários da bilirrubina e do urobilinogênio auxilia no diagnóstico diferencial da icterícia (STRASINGER, 2009).

A reação de Erlich é a mais comumente utilizada nas tiras reativas comerciais, e baseia-se na formação de um complexo de coloração avermelhada quando o urobilinogênio reage com o p- dimetilaminobenzaldeído em meio ácido (MUNDT, 2011).

Nitrito

O teste do nitrito baseia-se na atividade da nitrato redutase, enzima presente no metabolismo de algumas espécies bacterianas. A redução do nitrato a nitrito é uma característica das enterobactérias, os principais patógenos causadores das infecções do trato urinário (ITO, 2012). Contudo algumas cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva ou negativa possuem a nitrato redutase (ANDRÉA DE FÁTIMA *et al.*, 2005).

A positividade do teste depende da conversão do nitrato a nitrito pela ação bacteriana na urina. Essa conversão exige um tempo de contato da bactéria com a urina de pelo menos 4 horas. Assim, a melhor amostra é a primeira micção da manhã (MUNDT, 2011).

O nitrito é detectado através da reação de Greiss. Em um primeiro estágio o nitrito reage com uma amina aromática (ácido p-arsanílico ou sulfanilamida) em pH ácido para formar um composto diazônio. Esse composto diazônio então reage com compostos de tetrahidrobenzoquinolina para produzir um diazo de coloração rósea (STRASINGER, 2009).

A sensibilidade do teste varia entre 20 a 80% quando comparadas à cultura de urina, mas sua especificidade é superior a 90%. Podem ser encontrados resultados falsos positivos em amostras conservadas à temperatura ambiente, ocasionando multiplicação bacteriana; e em amostras muito pigmentadas (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000).

Resultados falso-negativos podem ocorrer na presença de ácido ascórbico, altos níveis de urobilinogênio, pH ácido e falta de nitrato na dieta; ou ainda nos casos em que ocorre formação de outros compostos no processo de redução, como amônia, óxido nítrico ou nitroso, hidroxilamina e nitrogênio, principalmente quando ocorre estase urinária. (MUNDT, 2011; ITO, 2012).

Esterase leucocitária

As células brancas do sangue podem estar presentes em todos os fluídos corporais, dependendo da causa de sua presença. Os neutrófilos são os leucócitos mais comumente encontrados na urina, e em pacientes hígidos estão presentes em baixo número. O aumento do número de leucócitos na urina é indicativo tanto de um processo inflamatório, quanto de um processo infeccioso localizado no trato urinário (MUNDT, 2011).

Esterases são enzimas presentes nos glóbulos brancos granulocíticos (neutrófilos, basófilos e eosinófilos) e também nos monócitos e histiócitos, além de estarem presentes em protozoários do gênero *Trichomonas*. Os eritrócitos e os linfócitos não possuem esterases, assim como as bactérias e as células do tecido renal. As esterases são liberadas na urina após a lise celular, que pode ocorrer nos processos infecciosos e em amostras com densidade baixa ou com pH alcalino, aspectos que favorecem a lise celular. Nos casos onde a lise celular é maciça é comum encontramos a reação de esterase leucocitária positiva com poucas células visualizadas na microscopia (FOGAZZI, VERDESCA E GARIGALI, 2008).

A metodologia adotada para a detecção da esterase leucocitária, baseia-se na sua reação com um substrato adequado, o ácido indoxilcarbônico éster, o composto aromático formado por essa reação, combina-se com um sal diazônio formando um complexo púrpura. O tempo de reação é mais longo, em torno de 2 minutos, quando comparado com os outros parâmetros presentes nas tiras reativas (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000; STRASINGER, 2009; MUNDT, 2011).

A sensibilidade do teste varia de 76% a 94%, e sua especificidade varia de 68% a 81% (FOGAZZI, VERDESCA E GARIGALI, 2008).

Os Resultados falso-negativos podem ocorrer em amostras com presença elevada de vitamina C, com proteinúria superior a 5g/L, glicosúria superior a 20 g/L além da presença de cefalosporinas, nitrofurantoína, ácido oxálico e sais de

mercúrio (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000). Resultados falso-positivos ocorrem em virtude da presença de detergentes oxidantes e de drogas como o imipenem, meropenem e ácido clavulânico. Urinas com coloração muito intensa podem dificultar a visualização da reação (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000; MUNDT, 2011).

Hemoglobina

A hemoglobina é usualmente detectada por meio de tiras reativas, baseada na atividade da pseudo peroxidase demonstrada pelo grupo heme presente na hemoglobina, assim como na mioglobina, que catalisa uma reação entre o peróxido de hidrogênio com o cromógeno tetrametilbenzidina, produzindo um produto final oxidado de coloração verde azulada (FOGAZZI, VERDESCA E GARIGALI, 2008).

Atualmente as tiras reativas detectam tanto a hemoglobina livre após a lise dos eritrócitos, como os eritrócitos intactos que são lisados ao entrarem em contato com a superfície da almofada reativa. Essa lise celular produz uma reação isolada resultando em padrão pontilhado sobre a almofada (STRASINGER, 2009). A atividade da pseudo peroxidase decai rapidamente, poucos dias, mesmo em amostras refrigeradas e é sensível a vários conservantes (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000).

A presença de eritrócitos na urina é indicativa de doenças pré-renais, renais e pós-renais, mas pode ocorrer devido a condições fisiológicas tais como, contaminação com fluxo menstrual e após exercício físico extenuante (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000; STRASINGER, 2009).

Hemoglobinúria, condição onde ocorre a presença de hemoglobina livre na urina, é indicativo tanto de processos hemolíticos quanto de hematúrias pré-renais, renais e pós-renais se as células estão sendo destruídas (tanto *in vivo* ou *in vitro*) por atraso na realização da microscopia. Quando a lise ocorre na urina geralmente é encontrada uma mistura de hematúria com hemoglobinúria. O pH alcalino e a baixa

densidade urinária, favorecem a lise dos eritrócitos (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000; STRASINGER, 2009).

A mioglobina é uma proteína que contém o grupo heme, encontrada em tecido muscular estriado. Injúrias causadas ao músculo cardíaco e aos músculos esqueléticos resultam em liberação de mioglobina na circulação sanguínea. Por ser uma proteína de baixo peso molecular, em torno de 17.000, é facilmente filtrada pelo glomérulo e excretada na urina (MUNDT, 2011).

Entre as doenças que podem levar a mioglobinúria estão as que causam necrose muscular nos pacientes, entre elas; síndrome de esmagamento; rabdomiólise ocasionada pelo alcoolismo, síndrome neuroléptica maligna e abuso de cocaína; polimiosite e toxinas exógenas (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000; MUNDT, 2011).

O uso de estatina, medicamento utilizado como redutor dos níveis de colesterol plasmático, pode levar a um quadro de rabdomiólise e consequente mioglobinúria (STRASINGER, 2009).

Kouyoumdjian em 2001 descreve o caso de um paciente jovem, do sexo masculino, que desenvolveu mioglobinúria, insuficiência renal e óbito, 11 dias após ingestão de monensina sódica, princípio ativo de Rumensin®, usado como aditivo alimentar para gado confinado (JOÃO ARIS *et al.*, 2001).

A detecção da hemoglobina por meio de tiras reativas apresenta uma sensibilidade de 95% a 100% e especificidade de 65% a 93%. Reações falso-positivas podem ocorrer nos processos infecciosos causados por espécies bacterianas com atividade da pseudo peroxidase (Enterobactérias, estafilococos e estreptococos) e presença de agentes oxidantes. E resultados falso-negativos ocorrem em urinas com concentração aumentada de ácido ascórbico (FOGAZZI, VERDESCA E GARIGALI, 2008).

2.7.2 AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA DA URINA

A microscopia urinária é uma ferramenta diagnóstica antiga. A observação ocasional e elementar da urina pode ser identificada na Europa já na primeira metade do século XVII, sendo que, pelo aspecto rudimentar dos antigos microscópios, essa análise ficava restrita a um grupo de pesquisadores com interesses científicos. Foi introduzida como prática clínica em 1830, por François Rayer associado com Eugène Napoleón Vigla em Paris (GIOVANNI BATTISTA E CAMERON, 1996; FOGAZZI E GARIGALI, 2003).

Outro ponto de destaque na evolução da microscopia urinária foi a divulgação de um estudo de Thomas Addis em 1920. Observando ao longo de alguns anos amostras de urina de pacientes com glomerulonefrite, o mesmo observou no sedimento urinário grande número de eritrócitos, leucócitos, células epiteliais e cilindros, esse sedimento tornava-se mais escasso à medida que o tempo passava indicando a transformação de uma doença ativa em um processo crônico. Com a quantidade de células e cilindros eliminados na urina, Addis introduziu um método baseado na coleta em um intervalo de tempo definido e quantificação em câmaras de contagem, técnica conhecida como “Contagem de Addis” e atualmente ainda utilizada em alguns laboratórios (GIOVANNI BATTISTA E CAMERON, 1996).

Em 1950, um corante supravital foi descrito por Sternheimer e Malbin, mais tarde o corante de Wright foi indicado para a evidenciação de eosinófilos na urina. Em estudos posteriores o corante de Hansel demonstrou maior sensibilidade nessa evidenciação (GIOVANNI BATTISTA E CAMERON, 1996).

O estudo de Fairley, na década de 80, demonstrou que a morfologia dos eritrócitos encontrados na urina poderia ser indicativa de hemorragia glomerular ou não glomerular. Este fato levou a elaboração de vários estudos subsequentes e a aplicação do estudo morfológico dos eritrócitos na urina na rotina laboratorial (GIOVANNI BATTISTA E CAMERON, 1996).

Na urinálise tradicional, uma amostra de urina de 10, 12 ou 15 mL, em tubo cônico, deve ser centrifugada e seu sobrenadante descartado, o sedimento restante no tubo é ressuspenso, colocado em lâmina e recoberto com uma lamínula para ser analisado em microscópio. Tal técnica é descrita tanto no documento GP16-A2 do CLSI (CLSI, 2001), como no *European Urinalysis Guidelines* (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000).

A força de centrifugação deve ser de 400G, para o cálculo exato da força, a seguinte fórmula é utilizada:

$$\text{rpm} = \sqrt{\frac{\text{RCF} \times 10^5}{1,12 \times r}}$$

Onde; RCF é a força centrífuga relativa, r é o raio da centrífuga em cm (medido do centro do rotor até o fim da caçapa onde se coloca o tubo) e rpm é o número de rpm (rotações por minuto). O tempo de centrifugação recomendado é 5 minutos (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000; CLSI, 2001; STRASINGER, 2009).

O volume do sedimento restante no tubo é determinante para a quantificação dos elementos encontrados, geralmente esse volume varia de 0,5 a 1,0 mL, e o valor de concentração deve corresponder ao volume de sedimento restante comparado ao volume inicial da amostra (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000; STRANSINGER, 2009).

Tanto o CLSI quanto o *European Urinalysis Guidelines* recomendam a padronização do volume de sedimento depositado na lâmina assim como do tamanho da lamínula, podendo variar de 18x18 mm a 22x22 mm, sendo que para cada lamínula utilizada existe um fator de correção no caso de reporte dos elementos em mL (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000; CLSI, 2001).

A visualização inicial da amostra deve ser realizada em pequeno aumento (100x), e a identificação dos elementos deve ser realizada em campo de grande aumento (400x) (CLSI, 2001; STRANSINGER, 2009).

O uso de câmaras de contagem é recomendado pelo *European Urinalysis Guidelines* (2000) na quantificação dos elementos urinários, sendo que os valores

encontrados devem estar em conformidade com as recomendações do fabricante da câmara de contagem. Apesar de apresentar uma quantificação mais precisa dos elementos, a contagem em câmara é pouco utilizada na prática laboratorial, sendo que a maioria dos laboratórios prefere reportar os elementos encontrados em campo de grande aumento (400x) (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000; FOGAZZI, VERDESCA E GARIGALI, 2008).

A microscopia de contraste de fase, quando comparada com a microscopia de campo claro, demonstra uma melhor detecção de alguns elementos, principalmente bactérias, eritrócitos e cilindros hialinos; e é a técnica padronizada para a identificação das hemácias dismórficas. Se utilizada a microscopia de campo claro esta deverá ser realizada com iluminação reduzida. O uso de corantes supravitalis é recomendado para a melhor diferenciação dos elementos urinários (BIRCH E FAIRLEY, 1979; RIZZONI, BRAGGION E ZACCHELLO, 1983; EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000; STRANSINGER, 2009).

A técnica conhecida como microscopia convencional com abaixamento das lentes condensadoras apresentou uma imagem similar das hemácias dismórficas observadas na microscopia de contraste de fase (COSTA *et al.*, 1996). Tal técnica pode ser aplicada em laboratórios de pequeno porte, visto que necessita apenas de microscópio ótico tradicional, não onerando os custos com a aquisição de microscópio com condensador de contraste de fase (BARROS SILVA *et al.*, 2010).

2.7.3 AUTOMAÇÃO NA URINÁLISE

Os equipamentos automatizados que acomodam muitas amostras e que realizam as análises em menor tempo estão sendo desenvolvidos para todas as áreas laboratoriais. Atualmente a urinálise caracteriza-se pelo aparecimento de equipamentos automatizados baseados em “software” que comparam as imagens dos elementos urinários com um banco de dados ou na citometria de fluxo, esses muito similares à tecnologia aplicada na hematologia (BLOCK E LIESKE, 2012). Os equipamentos mais comuns são os leitores de tiras reativa manuais, semiautomáticos ou totalmente automatizados. E os analisadores automatizados de

elementos urinários que podem estar acoplados a unidades leitoras de tiras reativas tornando-se assim capazes de realizar uma análise mais completa da amostra (MUNDT, 2011).

2.7.3.1 Leitores de tiras reativas

Segundo Strasinger (2009), a principal variável na análise química da urina é a interpretação visual da cor nas reações das tiras urinárias. Essa subjetividade foi reduzida pelo desenvolvimento de leitores de tiras reagentes.

O princípio utilizado é a fotometria por reflectância em que a reflexão da luz nas almofadas dos ensaios diminui na proporção da intensidade da cor produzida pela concentração da substância testada. Uma fonte de luz monocromática é direcionada para a almofada reagente, seja colocando um filtro entre a fonte de luz e a superfície refletora da almofada, seja utilizando um diodo emissor de luz (LED), para fornecer o comprimento de onda específico necessário para cada cor da reação. Na sequência, a luz é refletida para um fotodetector e um conversor analógico/digital que compara a quantidade de luz refletida com concentrações conhecidas, sendo então exibidos e impressos os resultados da amostra (STRASINGER, 2009).

Os cuidados na operação desses equipamentos incluem a leitura do manual de operações e o estabelecimento de um cronograma de manutenções (CLSI, 2001).

2.7.3.2 Citometria de fluxo

Apesar de amplamente difundida nas análises hematológicas, a citometria de fluxo tem uma história recente na urinálise. Lançados na década de 90, tais equipamentos não possuem a mesma popularidade dos equipamentos hematológicos. A Sysmex®, fabricante japonesa, introduziu a linha UF de

analisadores urinários lançando em 1995 o UF 100, seguido pelo UF 50 em 1997, e UF 1000i em 2006 (HAUSS, 2008; HENNEBERG, MARQUES, 2012).

O princípio da citometria de fluxo baseia-se na medição dos elementos que passam individualmente por uma câmara de contagem arrastados por um fluxo constante de um líquido condutor de eletricidade (FIGURA 12). A urina possui elementos muito heterogêneos, visto que o sedimento urinário não é constituído apenas de células, mas de cristais, cilindros, parasitas, fungos e bactérias. Tais elementos apresentam uma grande variedade de tamanhos e formas, podendo apresentar forma e tamanho semelhantes entre si. Desse modo nos analisadores urinários por citometria de fluxo não é utilizada uma única metodologia, mas sim um conjunto que é capaz de identificar e diferenciar os elementos e separá-los em subpopulações (HENNEBERG, MARQUES, 2012).

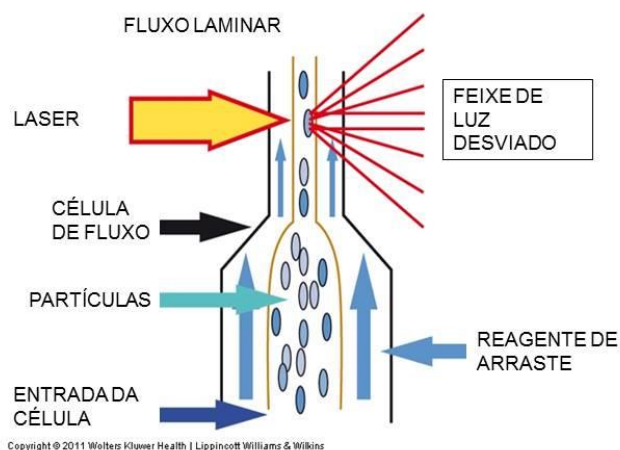


FIGURA 12 DIAGRAMA DO CITÔMETRO DE FLUXO DEMONSTRANDO O SENTIDO DE ENTRADA DAS PARTÍCULAS E SUA ORDENAÇÃO PARA A IDENTIFICAÇÃO E CONTAGEM AO PASSAREM PELO FEIXE DE LUZ DO LASER
 FONTE: ADAPTADO DE MUNDT, L.A. GRAFF'S TEXTBOOK OF ROUTINE URINALYSIS AND BODY FLUIDS 2 ED. PHILADELPHIA. WOLTERS KLUWER, 2011

A câmara de contagem possui na sua entrada dois sensores de condutividade, e o líquido de arraste (*sheath reagent*) mantém essa diferença de

potencial constante. As células geralmente são más condutoras de eletricidade, ao passarem pelos sensores elas modificam a diferença de potencial destes gerando um sinal proporcional ao tamanho da célula (HENNEBERG, MARQUES, 2012).

Na sequência, os elementos são direcionados a um laser de Argônio que incide sobre os elementos que estão enfileirados um a um. Esse feixe de laser tem a capacidade de excitar um corante fluorocrômico que é misturado à amostra de urina previamente. Esse corante é composto de carbocianina, que adere às membranas celulares e emite uma fluorescência esverdeada, e de fenantridina que se insere entre os ácidos nucleicos e emite uma fluorescência em tom alaranjado. Com base nesses dados o equipamento consegue diferenciar uma célula nucleada de outra anucleada. Ao mesmo tempo em que excita os corantes, o feixe de laser é desviado em várias direções (FIGURA 13) (OKADA, 2007; HENNEBERG, MARQUES, 2012).

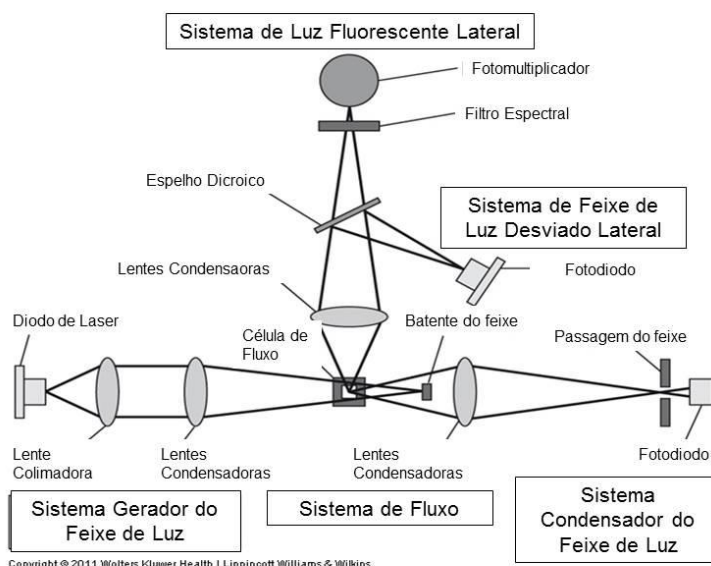


FIGURA 13: REPRESENTAÇÃO DO SISTEMA DE GERAÇÃO, CONDENSAÇÃO E DE CAPTURA DOS FEIXES DE LUZ DESVIADOS EM UM SISTEMA DE DIODO DE LASER DE ARGÔNIO. FONTE: ADAPTADO DE MUNDT, L.A. GRAFF'S TEXTBOOK OF ROUTINE URINALYSIS AND BODY FLUIDS 2 ED. PHILADELPHIA. WOLTERS KLUWER, 2011.

2.7.3.3 Microscopia automatizada com imagem digital

A microscopia automatizada com imagem digital é uma tecnologia comparada à microscopia convencional, atualmente produzido pela *77 Elektronika*, da Hungria (Sedi Max ®). O instrumento produz uma camada única de sedimento urinário por centrifugação da amostra em uma cubeta especial. O sedimento é então analisado por microscopia de campo claro e uma câmera digital captura as imagens e as separa em 15 categorias distintas, baseado no tamanho e forma, utilizando um *software* processador de imagens (BLOCK E LIESKE, 2012).

2.7.3.4 Imagem digital com reconhecimento de partículas

A imagem digital com reconhecimento de partículas utiliza a captura de imagens digitais em amostras de urina não centrifugada e as analisa através de um *software* neural denominado *Auto-Particle Recognition* (APR®), que classifica e quantifica as partículas baseando-se no tamanho, forma, contraste e textura. Atualmente é fabricado pela norte americana *Iris Diagnostics* (IQ 200®) (conforme Figura 14) As partículas são separadas em categorias que incluem: eritrócitos, leucócitos, agregados de leucócitos, cilindros hialinos, cilindros não classificados, células epiteliais, células epiteliais não escamosas, bactérias, leveduras, cristais, muco, espermatozóides e substâncias amorfas.(MUNDT, 2011;(BLOCK E LIESKE, 2012).



Copyright © 2011 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

FIGURA 14 EQUIPAMENTO IRIS IQ 200 ELITE TM®. COMPOSTO DE UMA UNIDADE LEITORA DE TIRAS (À ESQUERDA), UNIDADE DE ANÁLISE MICROSCÓPICA AUTOMATIZADA (CENTRO) E MICROCOMPUTADOR (À DIREITA).

FONTE: MUNDT, L.A. GRAFF'S TEXTBOOK OF ROUTINE URINALYSIS AND BODY FLUIDS 2 ED. PHILADELPHIA.WOLTERS KLUWER, 2011

3 MATERIAL E MÉTODOS

Esse Projeto foi apresentado ao Comitê de Ética e Pesquisa do Setor de Saúde da UFPR que emitiu o Parecer Consubstanciado de número:

CAAE: 15230113.5.0000.0102.

A Instituição Coparticipante – Hospital de Clínicas – UFPR emitiu o Parecer Consubstanciado de número: 361.880.

Foram analisadas 275 amostras de urina de pacientes da Unidade de Apoio Diagnóstico do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UAD-HC/UFPR), Curitiba – Paraná.

As amostras apresentaram solicitação médica de exame parcial de urina, e proviam dos diversos ambulatórios do Hospital. As análises foram realizadas no Setor de Microbiologia da UAD-HC, e posteriormente no Laboratório Escola da UFPR.

Após identificação das amostras, as mesmas foram analisadas em equipamento I-Chem® VELOCITY, fabricado pela IRIS *Diagnostics* – (Divisão da *International Remote Imaging Systems, Inc. EUA*). O equipamento é composto de duas unidades automatizadas, sendo uma unidade para os parâmetros físicos e bioquímicos, e outra unidade aonde é realizada a microscopia automatizada.

Esse equipamento possui registro na ANVISA/MS número: 800125901

Inicialmente as amostras são colocadas em “racks” com capacidade para dez tubos de amostra, essas racks são inseridas na unidade aonde serão avaliados os parâmetros físicos e bioquímicos da urina. A análise possui como princípio a determinação do índice de reflectância em três diferentes comprimentos de onda para determinação de bilirrubina, urobilinogênio, cetonas, ácido ascórbico, glicose, proteína, sangue, pH, nitrito, leucócitos utilizando tiras reativas. Um refratômetro acoplado a um fotodiodo para determinação da gravidade específica (densidade) e

um sensor que determina por refração automaticamente cor e aspecto da amostra. Após as “racks” são transportadas por meio de esteiras automatizadas para a unidade IQ 200®, onde será realizada análise microscópica. O equipamento possui leitor de código de barras integrado que identifica automaticamente as amostras (IRIS, 2004).

3.1 PRINCÍPIO ANALÍTICO DO IQ 200

O equipamento IQ 200® identificou os tubos com amostras, dispostos nas racks, através de leitura de código de barras. Após homogeneização e aspiração de uma alíquota de 1 mL, as amostras foram analisadas automaticamente. As amostras foram dispostas entre duas lâminas formando uma camada fluida, a qual fica sob um microscópio acoplado a uma câmera de vídeo *charged coupling device* (CCD). A posição dos elementos na amostra é similar à observada em microscopia ótica tradicional.













A câmera de vídeo CCD capturou 500 *frames* por amostra. A microscopia utiliza iluminação através de “flashes” de uma lâmpada estroboscópica. As imagens foram digitalizadas e enviadas à unidade analítica do computador.

As partículas foram individualizadas em cada *frame*. Após foram analisadas através do *software Auto Particle Recognition* (APR ®), que é uma rede neural preparada para classificar as partículas utilizando o tamanho, textura, contraste e forma, em 12 categorias distintas: leucócitos, eritrócitos, agregados leucocitários, cilindros hialinos, cilindros não classificados, células epiteliais de descamação, células epiteliais não escamosas, bactérias, fungos, muco, cristais e espermatozóides (FIGURA 15).

A quantidade de partículas foi calculada pelo número encontrado no volume analisado. O operador pode editar os resultados através da revisão das amostras (IRIS, 2004).

Auto classification Categories

The APR will classify and report the following categories.

Category	Abbreviation	Picture (example only)
Red blood cells	RBC	
White blood cells	WBC	
White blood cell clumps	WBCC	
Squamous epithelial cells	SQEP	
Non-squamous epithelial cells	NSE	
Bacteria	BACT	
Crystals	CRYS	
Hyaline Casts	HYA	
Unclassified Casts	UNCC	
Yeast	YST	
Sperm	SPRM	
Mucus	MUC	

Individual images that do not classify as any of the above types are identified as UNCL (Unclassified).

FIGURA 15 - IMAGENS CAPTADAS PELO IQ 200 ®
FONTE: IRIS DIAGNOSTICS. IQ 200 OPERATORS MANUAL. USA, 2004.

No presente trabalho, após a análise automatizada, as amostras selecionadas foram encaminhadas para a análise microscópica tradicional utilizando Câmara de Neubauer e Câmara K-Cell® sem serem centrifugadas, como preconiza o *European Urinalysis Guidelines* (EUG) para estudos comparativos entre metodologias manuais e automatizadas de urinálise (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000).

3.2 METODOLOGIA DE CONTAGEM EM CÂMARA DE NEUBAUER

A câmara de Neubauer consiste de uma lâmina de vidro espessa e retangular, onde no centro da superfície superior encontramos áreas delimitadas, essas são separadas do resto da lâmina por fossas, e duas barras transversais elevadas, presentes em ambos os lados da área delimitada.

A profundidade entre a superfície inferior da lamínula que se assenta sobre as barras transversais elevadas e a área delimitada é de 0,1 mm. A área delimitada é um quadrado de 3 mm de lado, dividido em 9 grandes quadrados cada um com 1mm de lado. Cada quadrado grande possui 1 mm² (FIGURA 16) (Bastidas, 2014).

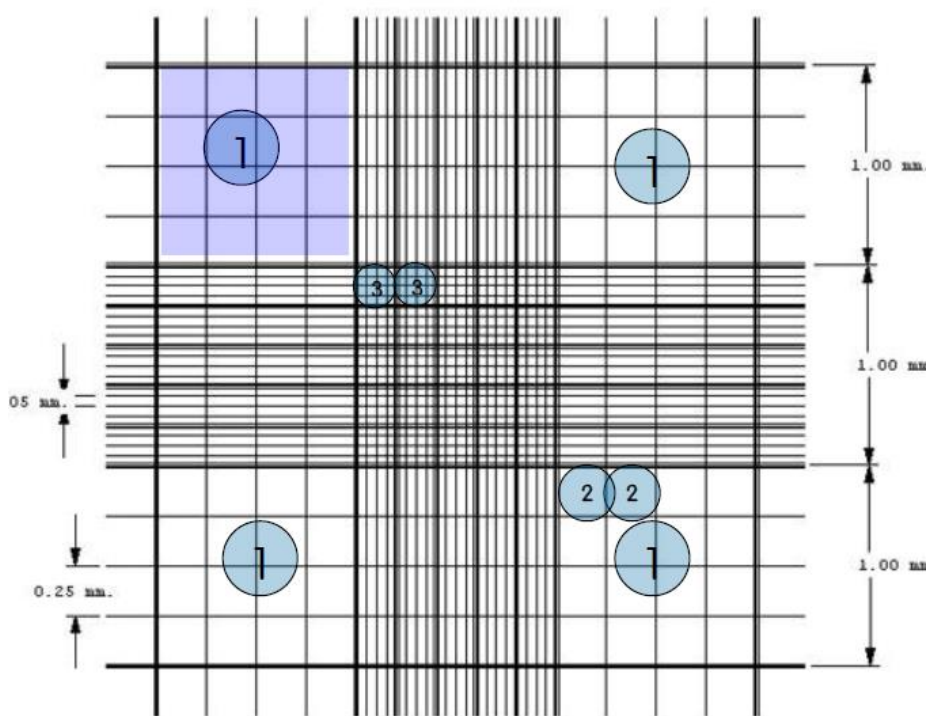


FIGURA 16 – REPRESENTAÇÃO DO RETÍCULO DE CONTAGEM DA CÂMARA DE NEUBAUER, ONDE O QUADRADO 1 CORRESPONDE A 1 mm², O QUADRADO 2 A 0,0625 mm² E O QUADRADO 3 A 0,04 mm².
FONTE: BASTIDAS, 2014

Para a contagem de leucócitos e hemácias foram utilizados os quatro quadrantes de leucócitos, representados na figura 16 com o número 1, o que equivale a ¼ da área total do retículo de contagem.

O resultado da contagem celular foi multiplicado por 2.500 para chegarmos ao valor celular por mL.

Esse fator corresponde a 2,5 ($\frac{1}{4}$ da área total), multiplicado por 1.000, já que a amostra não sofreu a concentração dos elementos pela centrifugação (VALLADA, 1988).

Após a homogeneização uma pequena alíquota da amostra era coletada utilizando uma pipeta de Pasteur e dispensada em ambos os retículos de contagem da câmara de Neubauer. Verificou-se a uniformidade da disposição dos elementos nos quadrantes e procedeu-se a contagem de leucócitos e hemácias nos quatro quadrados externos, desprezando aqueles elementos celulares que estivessem sobre as linhas ou encostados nas linhas delimitadoras externas dos quadrados.

Realizou-se a contagem em cada retículo e plotou-se o resultado da contagem em planilha de trabalho, após foi obtida a média das duas contagens. As contagens foram realizadas por apenas um técnico.

A média das contagens de cada amostra foi utilizada para os dados comparativos e estatísticos.

Amostras com valores muito discrepantes nas contagens celulares foram repetidas.

3.3 METODOLOGIA DE CONTAGEM NA CÂMARA K-CELL

A câmara K-Cell é feita de polimetil-metacrilato (PMMA), possui 10 poços de contagem. Cada poço de contagem possui 2 conjuntos de nove círculos, a contagem celular é realizada em um conjunto de nove círculos.

Cada círculo tem 0,376 mm de diâmetro, a área interna tem $0,111 \text{ mm}^2$ e o volume de cada círculo corresponde a $0,0111 \text{ mm}^3$ ou $0,011 \text{ }\mu\text{L}$.

O conjunto de 9 círculos corresponde a um volume total de $0,0999 \text{ mm}^3$ ou $0,1 \text{ }\mu\text{L}$ (Figura 17).

O resultado da contagem celular foi multiplicado por 10.000 para chegarmos ao valor celular por mL.

Uma área de 9 círculos presente em um poço de contagem da K-Cell® corresponde a um quadrado grande de contagem da câmara de Neubauer (VACUTESTKIMA, 2012).

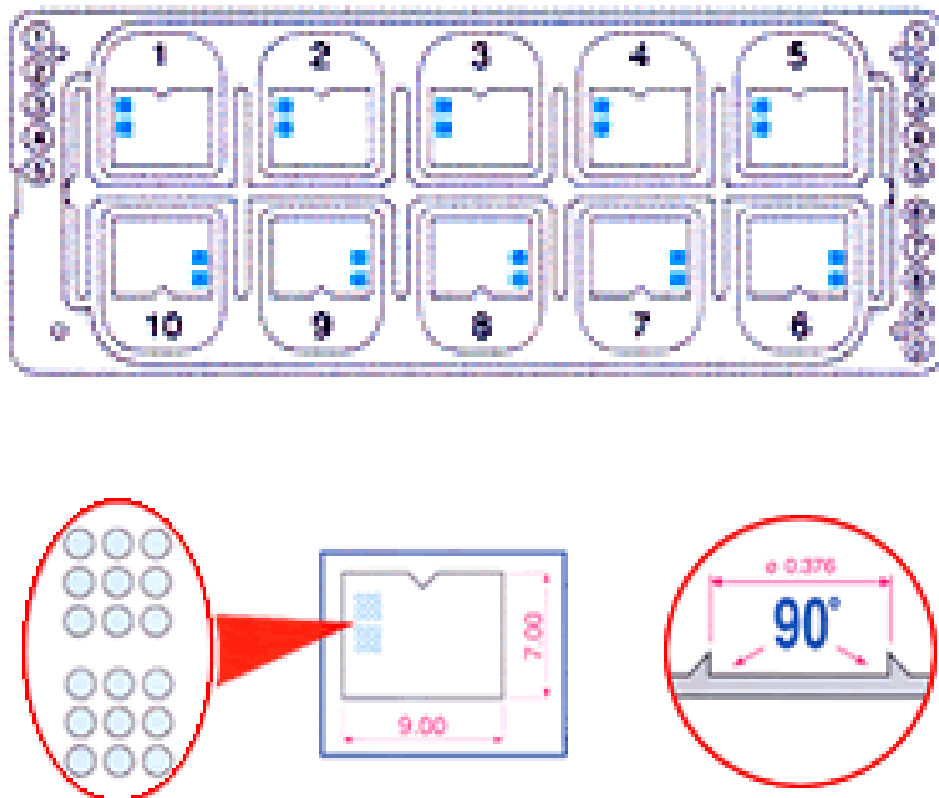


FIGURA 17 – REPRESENTAÇÃO DA CÂMARA K CELL ®. NO ALTO, REPRESENTAÇÃO DA PLACA DE PMMA COM OS DEZ POÇOS DE CONTAGEM. ACIMA À ESQUERDA REPRESENTAÇÃO DE UM POÇO DE CONTAGEM COM OS DOIS CONJUNTOS DE NOVE CÍRCULOS. ACIMA À DIREITA CORTE LATERAL DO POÇO DE CONTAGEM. FONTE: VACUTESTKIMA.

Após a homogeneização, uma pequena alíquota da amostra, o suficiente para o preenchimento do poço de contagem, era coletada utilizando uma pipeta de Pasteur e dispensada em um poço de contagem da câmara K-Cell®. Verificou-se a uniformidade da disposição dos elementos no poço de contagem e procedeu-se a contagem de leucócitos e hemácias em um conjunto de 9 círculos, desprezando aqueles elementos celulares que estivessem sobre as linhas ou encostados nas linhas delimitadoras externas dos círculos.

Realizou-se a contagem em cada conjunto de 9 círculos e plotou-se o resultado da contagem em planilha de trabalho, após foi obtida a média das duas contagens.

A média das contagens de cada amostra foi utilizada para os dados comparativos e estatísticos.

Amostras com valores muito discrepantes nas contagens celulares foram repetidas.

A análise estatística foi realizada em programa de planilhas Microsoft Excel 2010 ® e Statistica 10 ® (Statsoft) como análise de variância (ANOVA) modelo inteiramente casualizado, teste Z para duas proporções para categorias mutuamente exclusivas e análises de regressão e correlação de “Pearson”.

4 RESULTADOS

Foram analisadas 275 amostras de urina de pacientes da Unidade de Apoio Diagnóstico do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, localizado em Curitiba – Paraná.

Todas as amostras possuíam solicitação médica de exame parcial de urina, e proviam dos diversos ambulatórios do Hospital.

4.1 SEXO

Das amostras analisadas 215 eram de pacientes do sexo feminino e 60 de pacientes do sexo masculino.

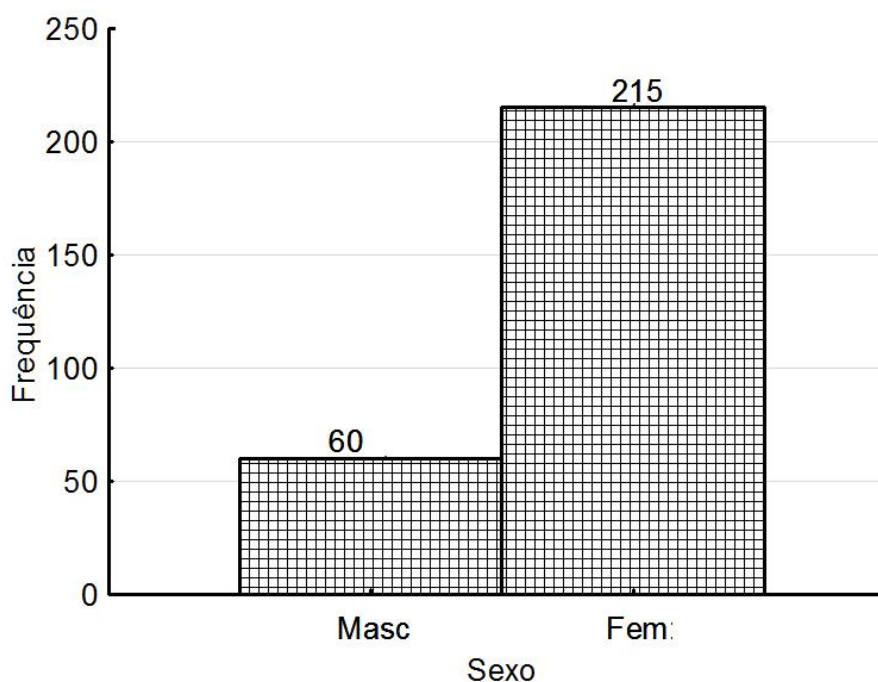


FIGURA 18: DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS ANALISADAS DE URINA QUANTO AO SEXO DOS PACIENTES. DIFERENÇA ESTATISTICAMENTE SIGNIFICANTE $Z=11,31$, $P=0,000$ (TESTE PARA DUAS PROPORÇÕES, CATEGORIA MUTUAMENTE EXCLUSIVAS)

4.2 IDADE

A idade variou de 03 a 88 anos de idade, sendo que a maioria das amostras situou-se na faixa etária entre 28 a 60 anos de idade. A mediana das amostras foi de 48 anos.

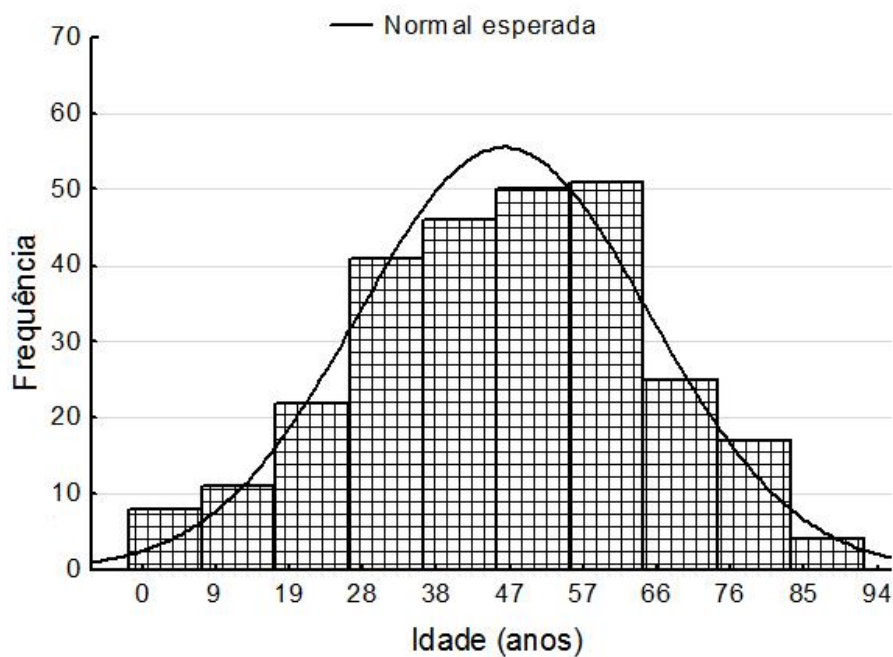


FIGURA 19: DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS ANALISADAS DE URINA QUANTO A IDADE DOS PACIENTES. AMOSTRA GAUSSIANA PARA IDADE ($P=0,182$; TESTE DE NORMALIDADE DE KOLMOGOROV-SMIRNOV).

4.3 ESTERASE LEUCOCITÁRIA

A reação de esterase leucocitária na tira reativa foi observada em 164 amostras.

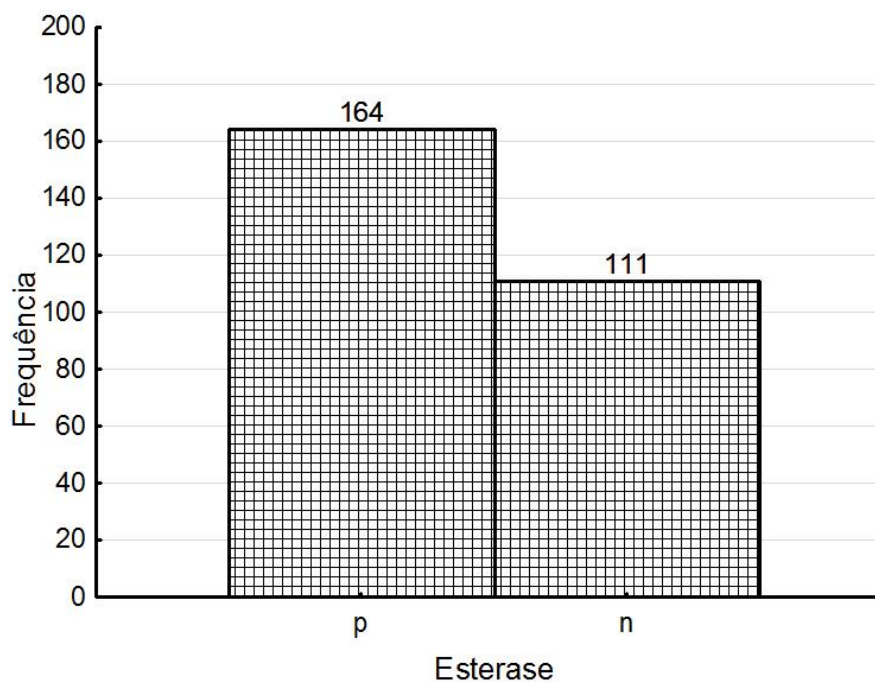


FIGURA 20: DETECÇÃO DE ESTERASE LEUCOCITÁRIA NAS AMOSTRAS DE URINA ANALISADAS (p- PRESENÇA, n- AUSÊNCIA)
DIFERENÇA ESTATISTICAMENTE SIGNIFICANTE $Z=3,257$, $P=0,001$ (TESTE PARA DUAS PROPORÇÕES, CATEGORIA MUTUAMENTE EXCLUSIVAS)

Quando comparadas a contagem de leucócitos por mL no equipamento IQ 200® e a presença de esterase na tira reativa foi observada uma diferença significativa ($p<0,001$) conforme Tabela 1.

					LIMITE DE CONFIANÇA		
	FATOR	MÉDIA	D.P.	EPM	-95.00%	+95.00%	N
TOTAL		198385	491056	29611	140089	256681	275
ESTERASE	p	315848	608413	47509	222035	409660	164
	n	24838	34152	3241	18413	31261	111

TABELA 1: CONTAGEM DE LEUCÓCITOS/ML COMPARADAS COM A PRESENÇA DE ESTERASE NA TIRA REATIVA

LEGENDA: p- PRESENÇA, n- AUSÊNCIA, D.P. – DESVIO PADRÃO, EPM- ERRO PADRÃO DA MÉDIA, N- TAMANHO AMOSTRAL.

DIFERENÇA ESTATISTICAMENTE SIGNIFICANTE ANOVA INTEIRAMENTE CASUALIZADO ($P < 0,001$)

Nas amostras analisadas com reação de esterase positiva na tira reativa, a média de contagem no equipamento IQ 200® foi de 315.848 leucócitos por mL de urina. Nas amostras esterase negativas a contagem no equipamento IQ 200® foi de 24.838 leucócitos por mL de urina, conforme Figura 21.

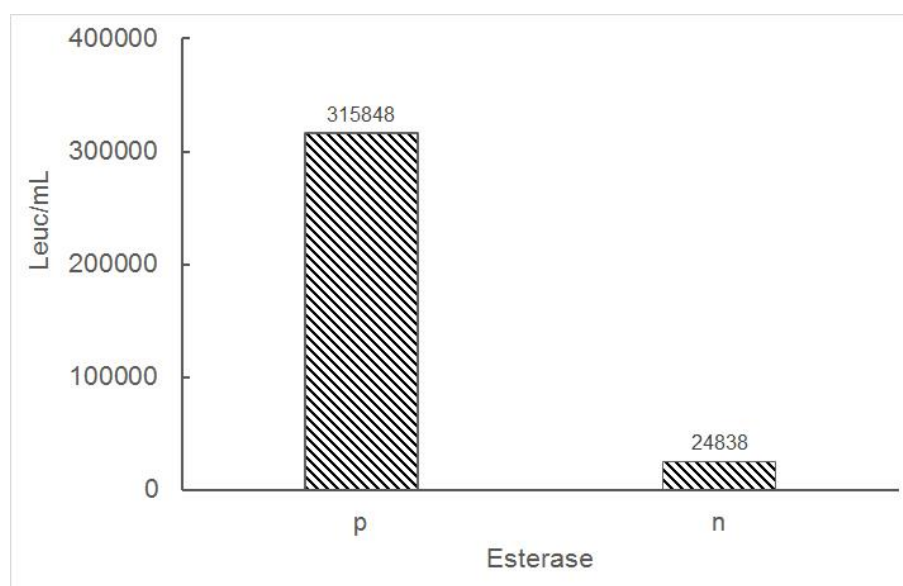


FIGURA 21: COMPARAÇÃO ENTRE ESTERASE LEUCOCITÁRIA NA TIRA REATIVA E CONTAGEM DE LEUCÓCITOS EM mL NAS AMOSTRAS DE URINA ANALISADAS

LEGENDA: P- PRESENÇA; N- AUSÊNCIA.

DIFERENÇA ESTATISTICAMENTE SIGNIFICANTE ANOVA INTEIRAMENTE CASUALIZADO ($P=0,000$)

4.4 HEMOGLOBINA

A presença de hemoglobina na tira reativa foi encontrada em 82 amostras, 193 amostras apresentaram reação negativa.

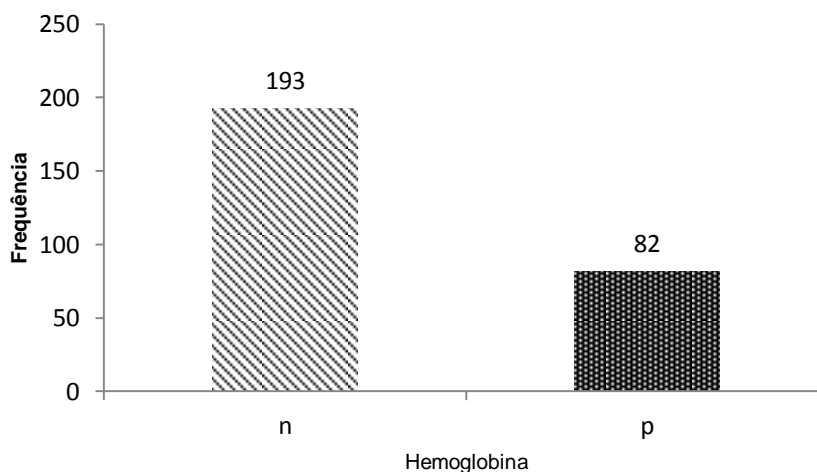


FIGURA 22: DETECÇÃO DE HEMOGLOBINA NAS AMOSTRAS DE URINA ANALISADAS
 LEGENDA: p- PRESENÇA; n – AUSÊNCIA
 DIFERENÇA ESTATISTICAMENTE SIGNIFICANTE $Z=7,316$, $P=0,000$ (TESTE PARA DUAS PROPORÇÕES, CATEGORIAS MUTUAMENTE EXCLUSIVAS)

Quando comparadas a reação positiva para hemoglobina na tira reativa com a contagem de eritrócitos no equipamento IQ 200® por mL apresentou diferença significativa ($p= 0,019$) conforme tabela 2

					LIMITE DE CONFIANÇA		
	FATOR	MÉDIA	DP	EPM	-95.00%	+95.00%	N
TOTAL		398811	4061453	244914,9	-83343	880965	275
HB	p	1275537	7394959	816636,6	-349314	2900387	82
	n	26316	46424	3341,7	19725	32907	193

TABELA 2: CONTAGEM DE ERITRÓCITOS/mL NO IQ200® QUANDO COMPARADAS COM A PRESENÇA DE HEMOGLOBINA NA TIRA REATIVA
 LEGENDA: HB – HEMOGLOBINA; p- PRESENÇA; n- AUSÊNCIA; DP – DESVIO PADRÃO; EPM - ERRO PADRÃO DA MÉDIA, N - TAMANHO AMOSTRAL.
 DIFERENÇA ESTATISTICAMENTE SIGNIFICATIVA ANOVA INTEIRAMENTE CASUALIZADO ($P=0,019$)

A contagem média de eritrócitos no equipamento IQ 200® por mL nas amostras com reação de hemoglobina positiva na tira reativa foi de 1.275.537/mL de urina, e nas amostras negativas foi de 26.316/mL de urina, conforme Figura 23.

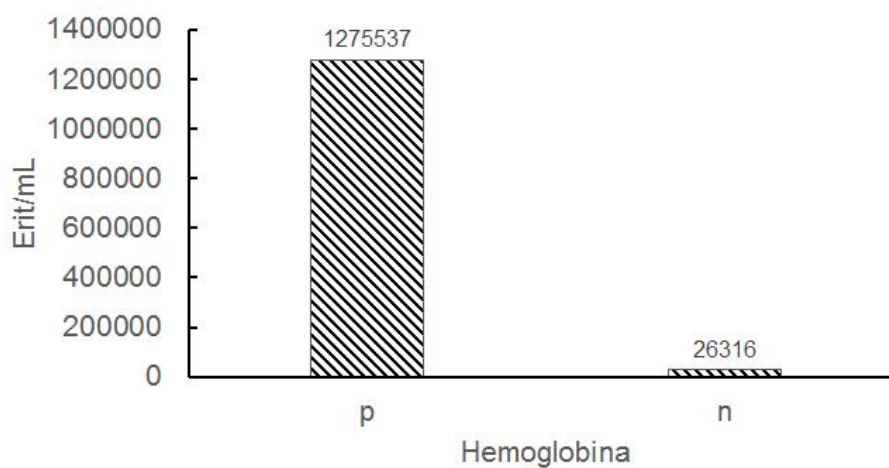


FIGURA 23: PRESENÇA DE HEMOGLOBINA NA TIRA REATIVA E CONTAGEM DE ERITRÓCITOS NO IQ 200®

LEGENDA: ERIT/mL- ERITRÓCITOS POR mL, p – PRESENÇA, n-AUSÊNCIA

4.5 MORFOLOGIA ERITROCITÁRIA

A presença de eritrócitos foi observada em 159 amostras. Após a revisão dos resultados fornecidos pelo IQ 200® pelos operadores o padrão isomórfico foi observado em 155 amostras, e o padrão dismórfico dos eritrócitos foi observado em 4 amostras e confirmado na microscopia ótica.

Em 116 amostras não foram observados eritrócitos.

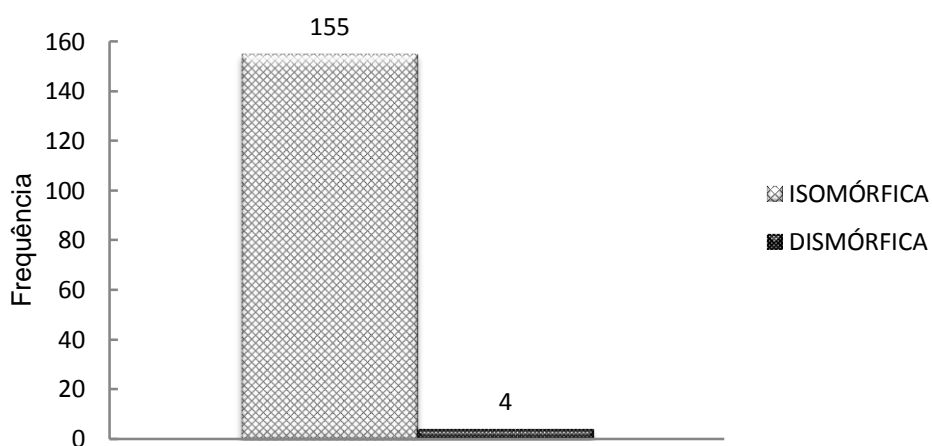


FIGURA 24: MORFOLOGIA ERITROCITÁRIA NAS AMOSTRAS DE URINA ANALISADAS

Registro fotográfico de Eritrócitos Dismórficos no IQ 200®

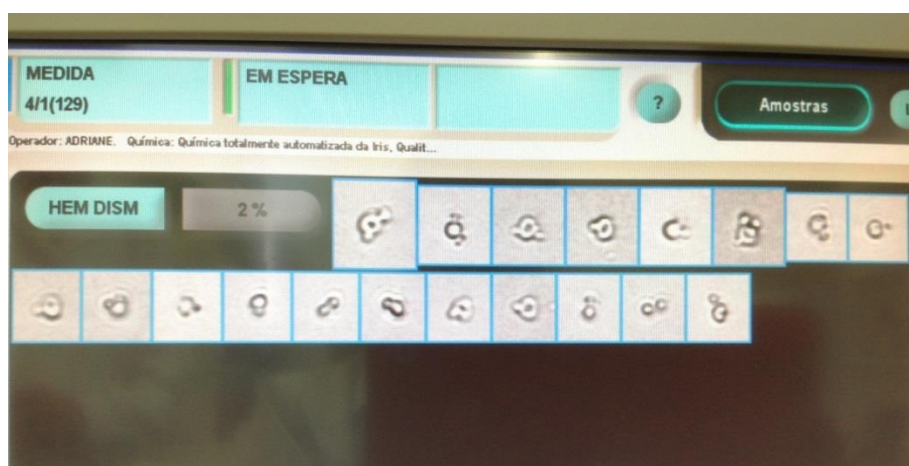


FIGURA 25 - REGISTRO FOTOGRÁFICO DE ERITRÓCITOS DISMÓRFICOS NO IQ 200®
FONTE – O AUTOR



FIGURA 26 - ERITRÓCITOS DISMÓRFICOS EM AMOSTRA DE URINA, MICROSCOPIA CONVENCIONAL, EXAME A FRESCO (AUMENTO 400X)
FONTE – O AUTOR

4.6 PRESENÇA DE CILINDROS

O IQ 200® analisou as 275 amostras em relação à presença de cilindros. A presença de cilindros foi observada em 33 amostras, com predomínio de Cilindros Hialinos (n=21). Ainda foram observados Cilindros Granulosos (n=6), Cilindros Hialinos e Granulosos (n=6).

Na microscopia ótica foram observados cilindros em 34 amostras. O predomínio foi de Cilindros Hialinos (n=20). Foram observados Cilindros Granulosos (n=7), Cilindros Hialinos e Granulosos (n=6) e em uma amostra foram observados Cilindros Hialinos e Hemáticos (Figura 27).

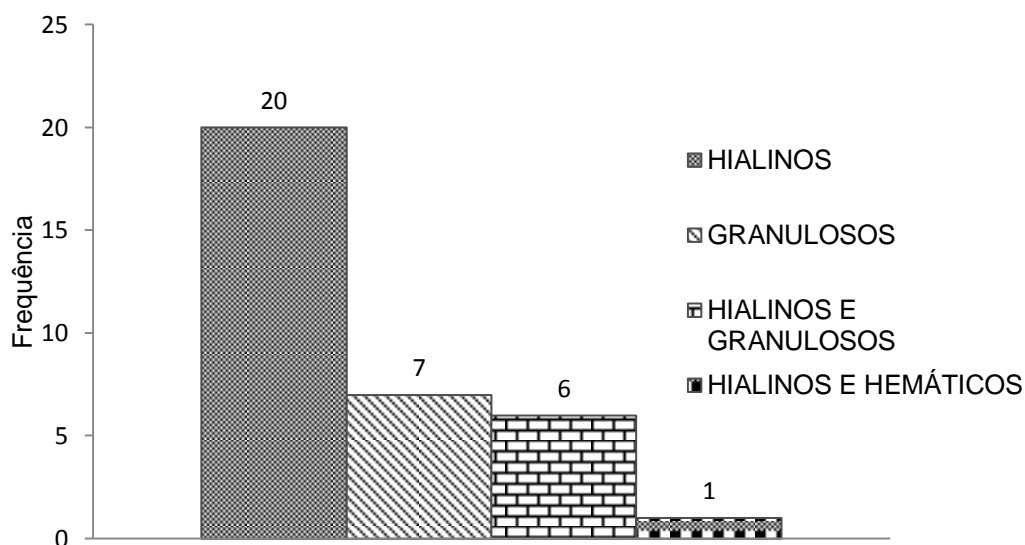


FIGURA 27: PRESENÇA DE CILINDROS NA MICROSCOPIA ÓTICA

4.7 OUTROS ACHADOS

No equipamento IQ200® foram observadas leveduras em 6 amostras e espermatozóides em uma amostra, sendo confirmados os achados pela microscopia ótica.

4.8 CONTAGEM DE LEUCÓCITOS

As contagens de Leucócitos apresentaram valores que variaram de 0 a 3.322.000/mL no equipamento IQ 200, de 0 a 10.000.000 /mL na contagem em câmara K-Cell® e de 0 a 2.500.000 /mL na câmara de Neubauer, conforme Tabela 3.

Apesar da diferença significativa alcançada nas contagens máximas o intervalo de confiança foi o mesmo nas duas metodologias convencionais.

					LIMITE DE CONFIANÇA	
	MÉDIA	D.P.	MÍNIMO	MÁXIMO	-95.0%	95.0%
LEUCIQ200	198	491	0	3322	140	257
LEUKCELL1	31	119	0	1000	17	45
LEUKCELL2	31	118	0	1000	17	45
LEUNEWB1	50	147	0	1000	32	67
LEUNEWB2	50	148	0	1000	32	67

TABELA 3: CONTAGENS DE LEUCÓCITOS NOS EQUIPAMENTOS IQ 200®, CÂMARA K-CELL® E NA CÂMARA DE NEUBAUER.

TAMANHO AMOSTRAL= 275; D.P. – DESVIO PADRÃO
VALORES APRESENTADOS COMO LEU/ μ L

Os histogramas de frequência de valores normais nas três metodologias se comparam, conforme figuras 28, 29 e 30.

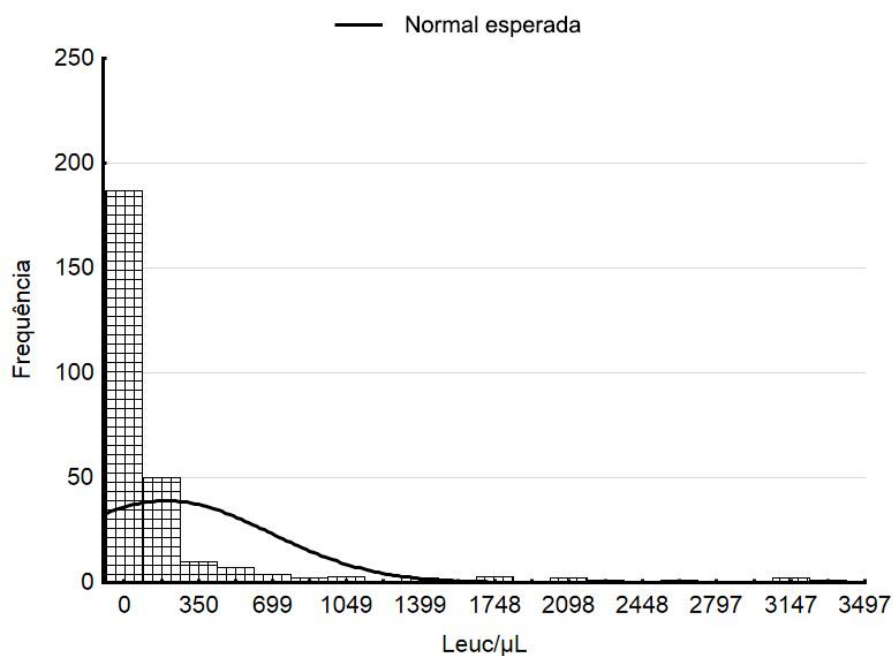


FIGURA 28: CONTAGEM DE LEUCÓCITOS NAS AMOSTRAS DE URINAS PELO EQUIPAMENTO IQ200®
AMOSTRA NÃO GAUSSIANA PARA LEUCÓCITOS ($P < 0,001$; TESTE DE NORMALIDADE DE KOLMOGOROV-SMIRNOV).

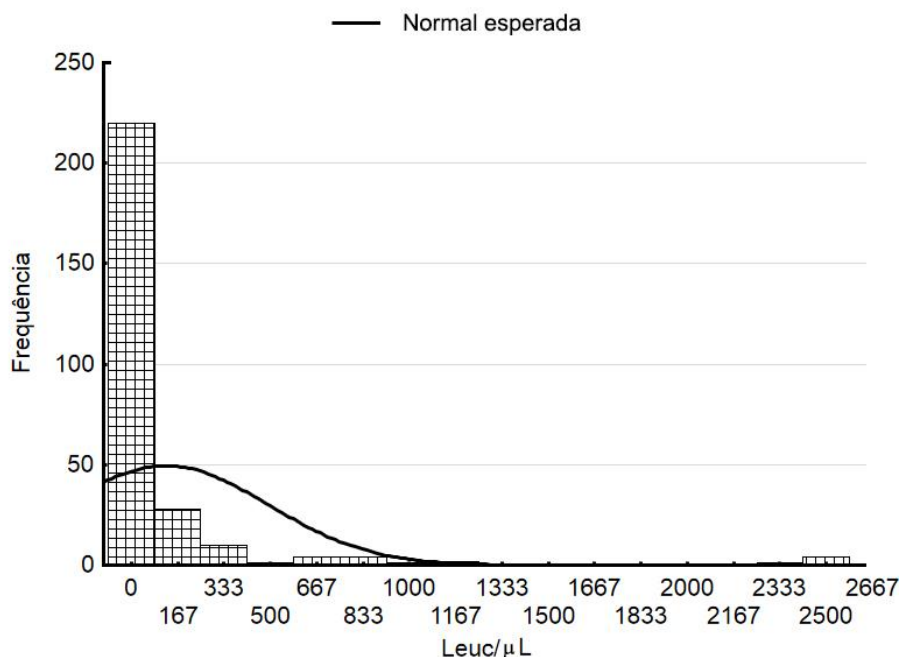


FIGURA 29: CONTAGEM DE LEUCÓCITOS NAS AMOSTRAS DE URINAS PELA CÂMARA DE NEUBAUER
AMOSTRA NÃO GAUSSIANA PARA LEUCÓCITOS ($P < 0,001$; TESTE DE NORMALIDADE DE KOLMOGOROV-SMIRNOV).
VALORES EXPRESSOS EM LEU/ μ L

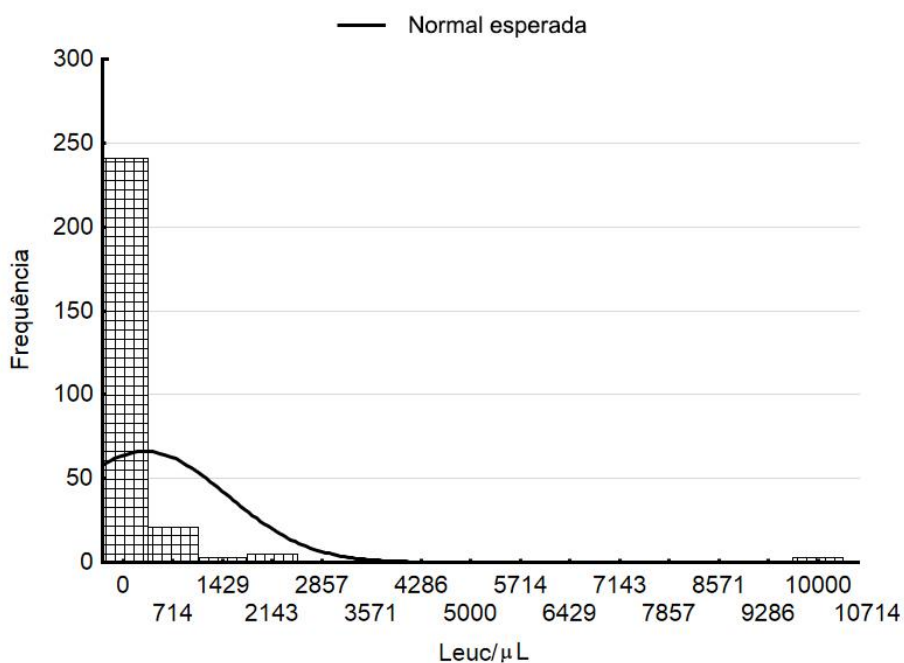


FIGURA 30: CONTAGEM DE LEUCÓCITOS NAS AMOSTRAS DE URINAS PELA K-CELL®
AMOSTRA NÃO GAUSSIANA PARA LEUCÓCITOS ($P < 0,001$; TESTE DE NORMALIDADE DE KOLMOGOROV-SMIRNOV).
VALORES EXPRESSOS EM LEU/ μ L

4.9 CONTAGEM DE ERITRÓCITOS

As contagens de eritrócitos variaram de 0 a 66.699.000/mL no equipamento IQ 200®, de 0 a 5.000.000/mL na câmara de Neubauer e de 0 a 2.500.000/mL na câmara K-Cell®, conforme Tabela 4.

Apesar da diferença significativa alcançada nas contagens máximas o intervalo de confiança foi o mesmo nas duas metodologias convencionais

					INTERVALO DE CONFIANÇA	
	MÉDIA	D.P.	MÍNIMO	MÁXIMO	95.000%	95.000%
ERITIQ200/ μ L	401	4061	0	66699	-82	883
ERIKCELL1	25	97	0	500	14	37
ERIKCELL2	25	97	0	500	14	37
ERINEW1	31	138	0	1000	15	48
ERINEW2	31	138	0	1000	15	48

TABELA 4: CONTAGENS DE ERITRÓCITOS NOS EQUIPAMENTOS IQ 200®, CÂMARA K-CELL® E NA CÂMARA DE NEUBAUER.
TAMANHO AMOSTRAL= 275
D.P. – DESVIO PADRÃO

Os histogramas de frequência de valores encontrados nas três metodologias se comparam conforme Figuras 31, 32 e 33.

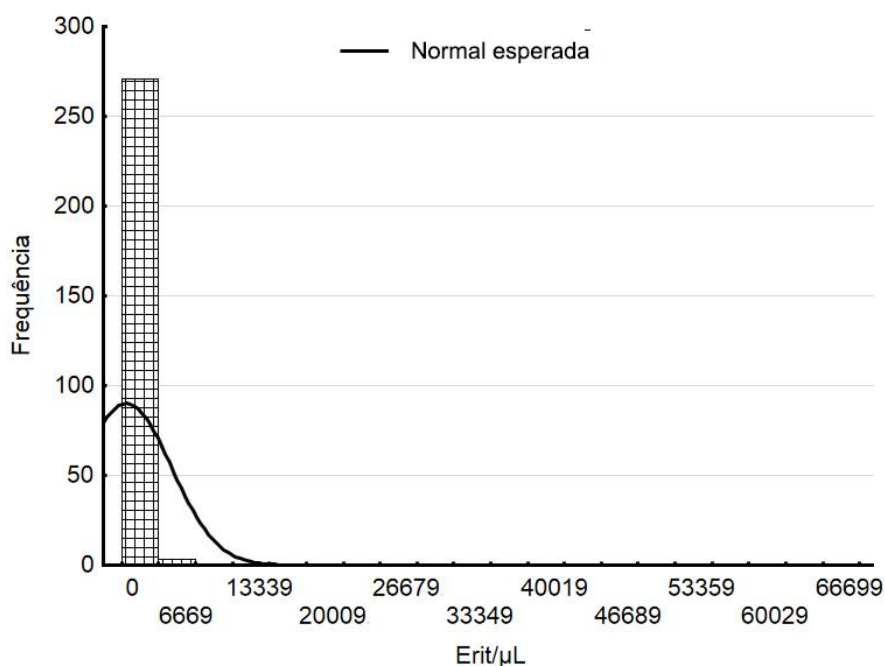


FIGURA 31: CONTAGEM DE ERITRÓCITOS NAS AMOSTRAS DE URINAS PELO EQUIPAMENTO IQ200®
 AMOSTRA NÃO GAUSSIANA PARA ERITRÓCITOS ($P < 0,001$; TESTE DE NORMALIDADE DE KOLMOGOROV-SMIRNOV).
 VALORES EXPRESSOS EM ERIT/ μ L

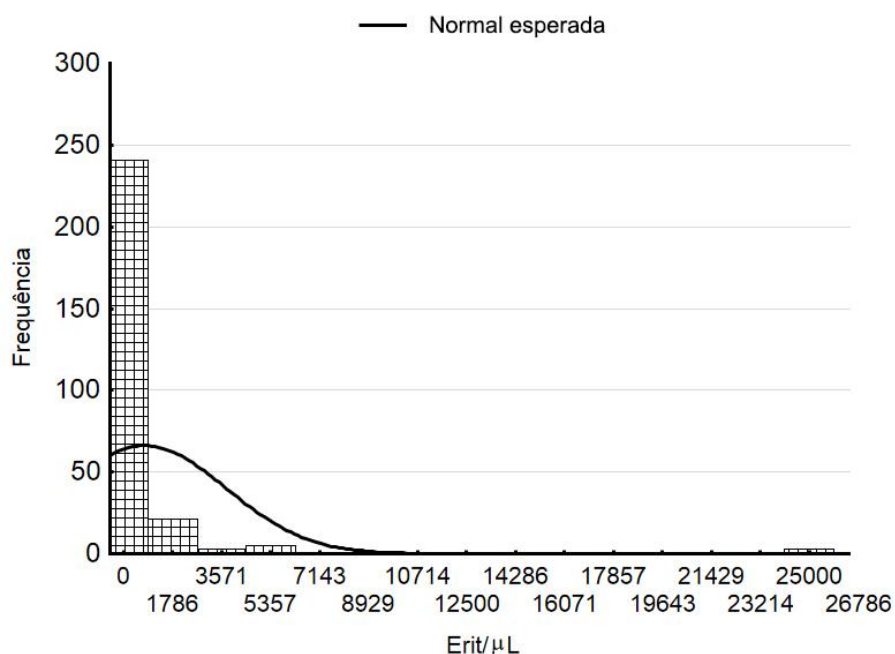


FIGURA 32: MÉDIA DAS CONTAGENS DE ERITRÓCITOS NAS AMOSTRAS DE URINA PELA CÂMARA DE NEUBAUER
 AMOSTRA NÃO GAUSSIANA PARA ERITRÓCITOS ($P < 0,001$; TESTE DE NORMALIDADE DE KOLMOGOROV-SMIRNOV).
 VALORES EXPRESSOS EM ERIT/ μ L

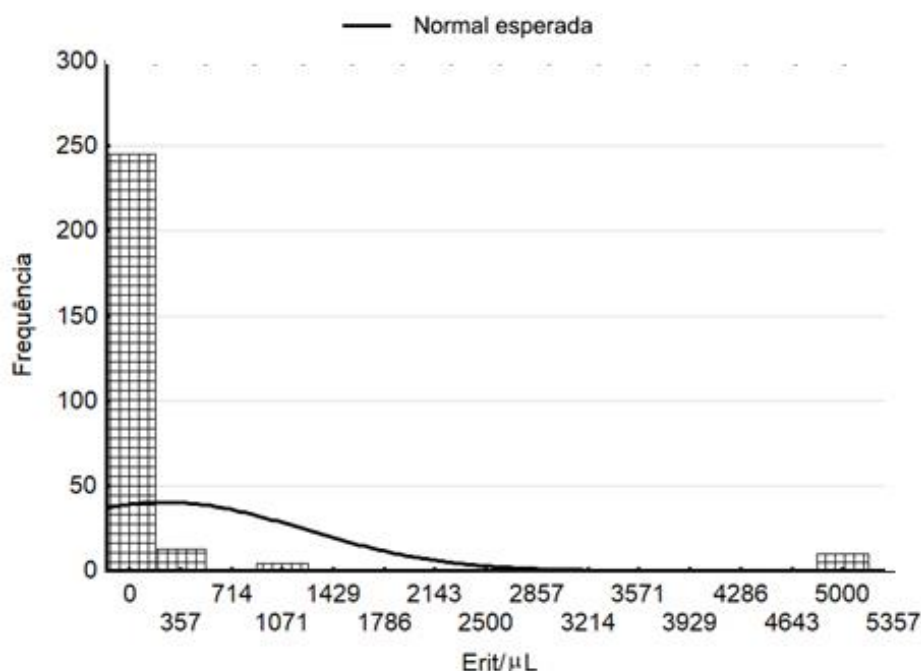


FIGURA 33: MÉDIA DAS CONTAGENS DE ERITRÓCITOS NAS AMOSTRAS DE URINA PELA KCELL®
 AMOSTRA NÃO GAUSSIANA PARA ERITRÓCITOS ($P < 0,001$; TESTE DE NORMALIDADE DE KOLMOGOROV-SMIRNOV).
 VALORES EXPRESSOS EM ERIT/ μ L

4.10 COMPARAÇÃO ENTRE AS METODOLOGIAS DE CONTAGEM

4.10.1 COMPARAÇÃO ENTRE K-CELL® E O EQUIPAMENTO IQ 200®

A comparação da contagem de eritrócitos entre essas duas metodologias apresentou um erro casual ($1-R^2$) de 21 % e um erro sistemático de 2 % (1-b). Sendo que os valores encontrados são em média 1,16 vezes maiores no IQ 200®.

Devido à natureza dos dados, os valores numéricos foram transformados em valores logarítmicos (log). O gráfico log-log permite representar os dados com um intervalo muito grande de variação em um pequeno espaço, conforme Figura 34.

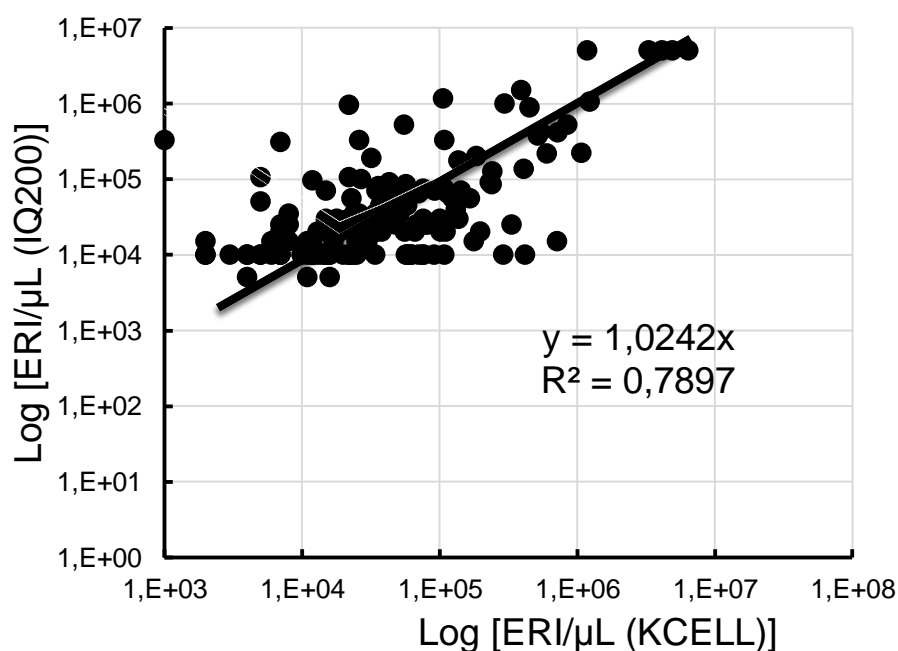


FIGURA 34: COMPARAÇÃO ENTRE A CONTAGEM DE ERITRÓCITOS NA K-CELL® E IQ 200®. VALORES EXPRESSOS EM μL

A comparação da contagem de leucócitos entre essas duas metodologias apresentou um erro casual ($1-R^2$) de 51,89% e um erro sistemático de 65,6 % (1-b), sendo que os valores encontrados no equipamento IQ 200® são em média 1,6 vezes maiores que os encontrados na contagem em câmara K-Cell ®. A correlação entre as duas metodologias é fraca quando os valores são superiores a 1,5 milhão.

Quando corrigidos pelo fator 0,66 o erro casual permanece em 51,89 % e o erro sistemático foi reduzido para 9,3%.

Devido à natureza dos dados, os valores numéricos foram transformados em valores logarítmicos (log), conforme Figura 35.

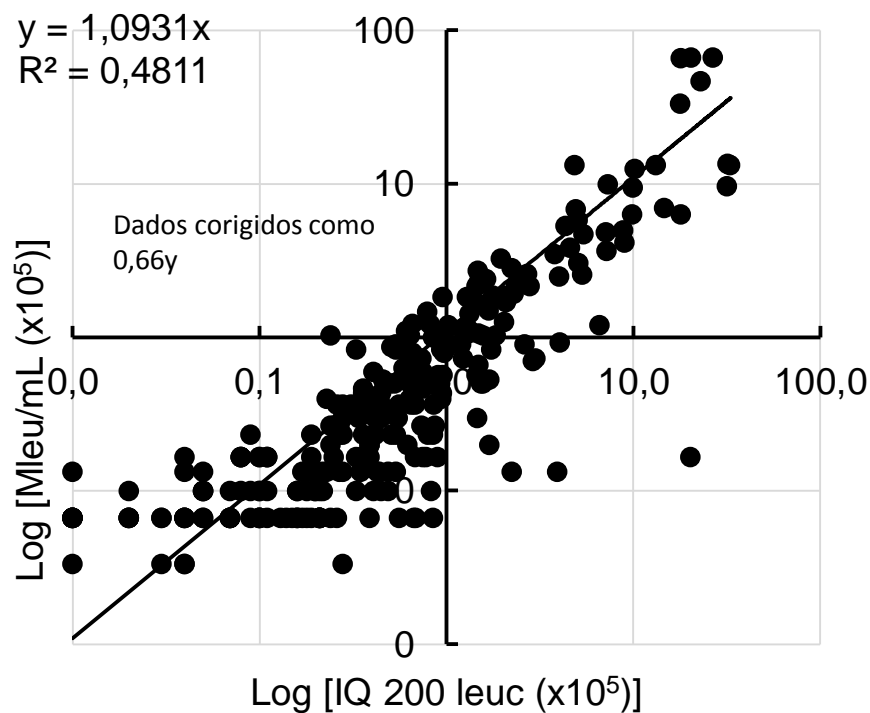


FIGURA 35: COMPARAÇÃO DA CONTAGEM DE LEUCÓCITOS ENTRE K-CELL® E IQ 200 ®

4.10.2 COMPARAÇÃO ENTRE A CONTAGEM EM CÂMARA DE NEUBAUER E O EQUIPAMENTO IQ 200®

A comparação da contagem de eritrócitos entre as duas metodologias apresentou um erro casual ($1-R^2$) de 43% e um erro sistemático ($1-b$) de 18%, sendo que os valores encontrados nas contagens realizadas pelo IQ 200® são em média 2,75 vezes maiores que as da Câmara de Neubauer.

Devido à natureza dos dados, os valores numéricos foram transformados em valores logarítmicos (log), conforme Figura 36.

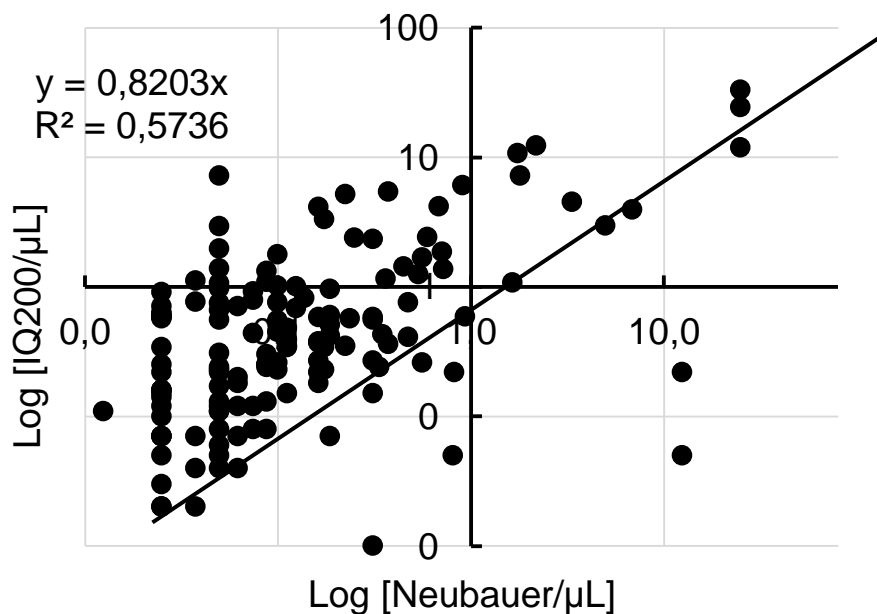


FIGURA 36: COMPARAÇÃO DA CONTAGEM DE ERITRÓCITOS ENTRE CÂMARA DE NEUBAUER E IQ 200®

A comparação da contagem de leucócitos entre essas duas metodologias apresentou um erro casual ($1-R^2$) de 39,47 % e um erro sistemático de 41 % (1-b), sendo que os valores encontrados no equipamento IQ 200® são em média 1,6 vezes maiores que os encontrados na contagem em Câmara de Neubauer. A correlação entre as duas metodologias é fraca quando os valores são superiores a 1 milhão.

Quando corrigidos pelo fator 1,59 o erro casual permanece em 39,47 % e o erro sistemático fica em 6,1 % (1-b).

Devido à natureza dos dados, os valores numéricos foram transformados em valores logarítmicos (log), conforme Figura 37.

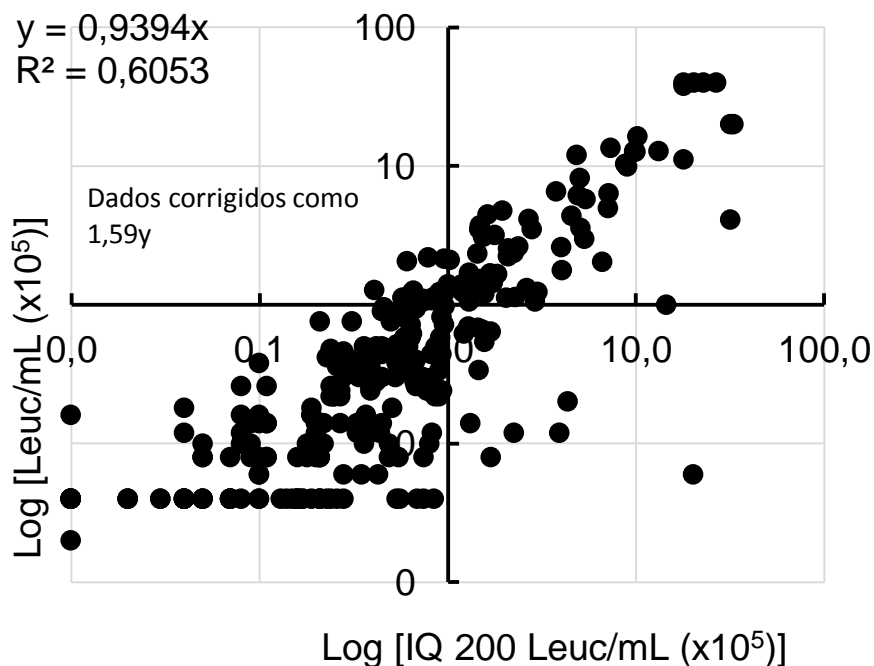


FIGURA 37 : COMPARAÇÃO DA CONTAGEM DE LEUCÓCITOS ENTRE CÂMARA DE NEUBAUER E IQ 200®

4.10.3 COMPARAÇÃO ENTRE CÂMARA DE NEUBAUER E K-CELL®

A contagem de eritrócitos nas duas metodologias foi equivalente apresentando um erro casual de 25 % ($1-R^2$) e erro sistemático de 11 % ($1-b$).

Devido à natureza dos dados, os valores numéricos foram transformados em valores logarítmicos (log), conforme Figura 38.

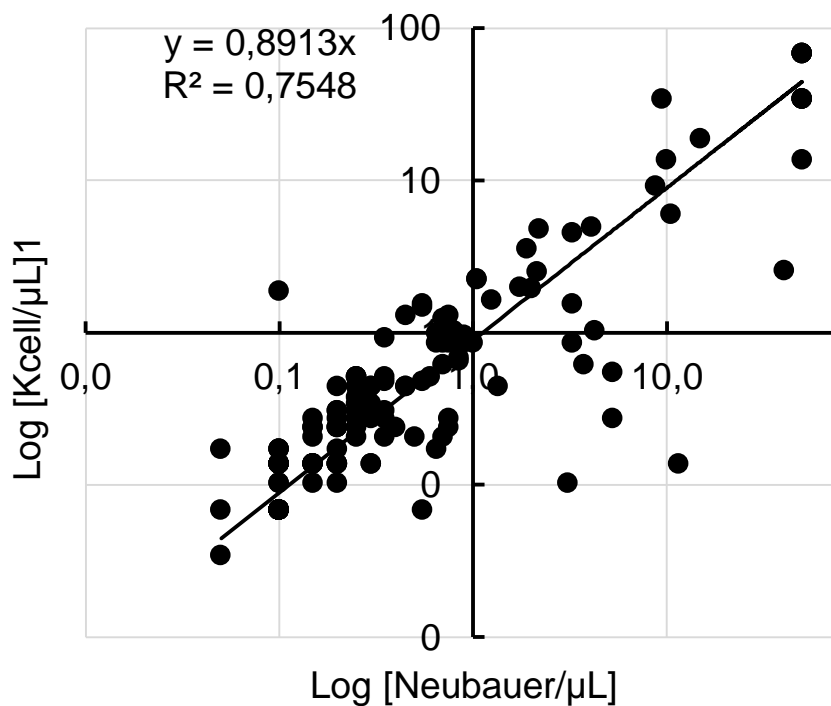


FIGURA 38: COMPARAÇÃO DA CONTAGEM DE ERITRÓCITOS ENTRE CÂMARA DE NEUBAUER E K-CELL®

A comparação da contagem de leucócitos entre essas duas metodologias apresentou um erro casual ($1-R^2$) de 13,11 % e um erro sistemático de 70.11 % (1-b).

Os valores numéricos foram transformados em valores logarítmicos (log), conforme Figura 39.

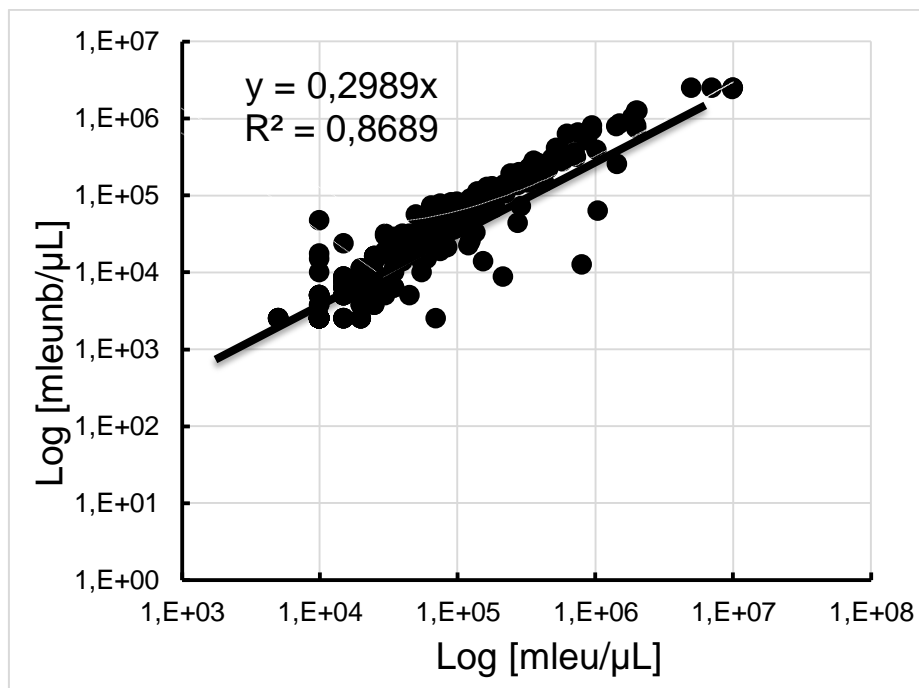


FIGURA 39 : COMPARAÇÃO DA CONTAGEM DE LEUCÓCITOS EM CÂMARA DE NEUBAUER E KCELL®.

Quando utilizado o fator de 3,34 para a correção das contagens de leucócitos na câmara de Neubauer o erro casual ($1-R^2$) permanece em 13,11% mas o erro sistemático ($1-b$) fica em 0,16%, conforme Figura 40.

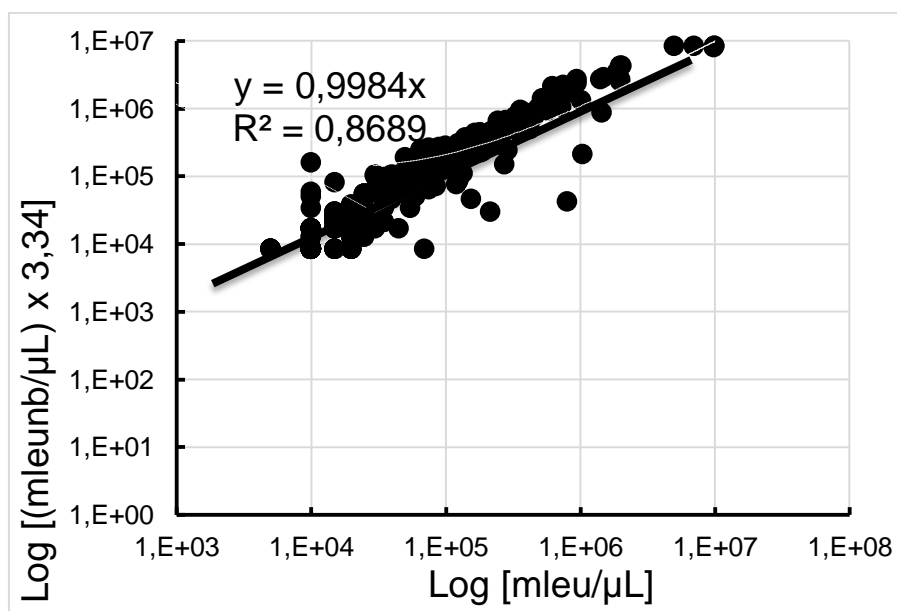


FIGURA 40 : COMPARAÇÃO DA CONTAGEM DE LEUCÓCITOS EM CÂMARA DE NEUBAUER E KCELL5 DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

A pesquisa de elementos urinários como leucócitos, eritrócitos, cilindros e células epiteliais é importante método de *screening* realizado pelos laboratórios clínicos para a detecção precoce de doenças renais e de patologias do trato urinário, principalmente em pacientes assintomáticos (CHEN *et al.*, 2009). Mesmo com a introdução de analisadores de partículas nas últimas décadas, a análise microscópica da urina ainda é necessária, devido às limitações que os sistemas automatizados apresentam quando as amostras analisadas apresentam cristais, leveduras e eritrócitos dismórficos (WAH, WISES E BUTCH, 2005). Estudos que avaliam a precisão e correlação das várias metodologias de análise da urina têm sido realizados, objetivando melhorar o entendimento e a interpretação dos resultados do exame de urina (SKITEK, 2004; LAMCHIAGDHASE *ET AL.*, 2005; WAH, WISES E BUTCH, 2005).

Em nosso estudo, 78,2 % das amostras (n=215) foram provenientes de pacientes do sexo feminino. As mulheres, devido às condições anatômicas, são mais suscetíveis às patologias do sistema urinário principalmente as infecções do trato urinário (STAMM, 2001; BARROS, 2006). A distribuição etária das amostras teve uma mediana de 48 anos, sendo que o maior número de amostras concentrou-se na faixa dos 28 a 60 anos de idade. As patologias do sistema urinário acometem pacientes de todas as faixas etárias, sendo que nos pacientes pediátricos as infecções do trato urinário e as más formações urológicas são mais frequentes, enquanto que nos adultos e nos pacientes idosos além das infecções do trato urinário, existem patologias decorrentes de doenças crônicas (AVENDAÑO, 2009; (TONELLI E RIELLA, 2014).

A prova da esterase leucocitária realizada através da tira reativa apresentou uma diferença significativa ($p < 0,001$) quando comparada as contagens de leucócitos nos demais métodos. Nas amostras analisadas com reação de esterase positiva na tira reativa, a média de contagem no analisador IQ 200® 315.848 leucócitos por mL de urina. Os resultados comprovam a baixa frequência para resultados falso-positivos nesta prova. As principais causas de resultados falso-positivos na prova da

esterase leucocitária incluem além de agentes oxidantes, reação com os núcleos de células epiteliais, e de drogas como imipenem, meropenem e ácido clavulânico (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000; STRASINGER, 2009; MUNDT, 2011).

Nas amostras negativas para a prova de esterase a média da contagem de leucócitos no analisador IQ 200®, foi de 24.838 leucócitos por mL de urina (n=111), fato que mostra a baixa sensibilidade da tira reativa para valores considerados como leucocitúria significativa ($>10.000/\text{mL}$). Este resultado deve ser analisado de forma criteriosa, pois a sensibilidade da prova descrita pelo fabricante traz a informação de um limiar de detecção para a presença da esterase a partir de contagens de leucócitos acima de 25.000 leucócitos/mL (25 leuc/ μL) na amostra (IRIS, 2004). A prova da esterase baseia-se na presença desta enzima na urina, fato que ocorre após a lise celular em processos infecciosos ou em amostras com densidade baixa ou pH alcalino. Segundo Skitek (2004) podem ocorrer resultados falso negativos nas contagens de leucócitos em amostras com esterase positiva, fato que ocorre em amostras mal preservadas ou quando analisadas após 2 horas da coleta. São relatados como possíveis interferentes falso-negativos: níveis altos de glicose e proteínas, grande quantidade de pigmento amarelo e densidade alta devido à crenação de leucócitos que impede a liberação de suas esterases. Várias drogas e produtos químicos também podem produzir resultado falso negativo, tais como ácido ascórbico, ácido oxálico, cefalexina, cefalotina, gentamicina e tetraciclina (STRASINGER, 2009; MUNDT, 2011).

St. John e colaboradores. (2006) salientaram uma considerável heterogeneidade na acurácia das tiras reativas quando usadas para a exclusão de amostras de urina encaminhadas para a semeadura em meios de cultura. Desta forma, a ausência de reatividade na tira reativa não é necessariamente um indicativo de contagem de leucócitos abaixo do valor de referência, o que corrobora para a importância da revisão microscópica. Dentro deste contexto, a análise dos leucócitos, seja automatizada ou morfológica, deve ser realizada mesmo em amostras aparentemente negativas na prova da tira reativa.

Quando foi comparada a presença de hemoglobina na tira reativa em relação à contagem de eritrócitos na metodologia automatizada encontrou-se uma diferença significativa ($p=0,019$). Das amostras analisadas, 70,2% apresentaram

resultado negativo na tira, sendo que a média de contagem de eritrócitos nas amostras com reação de hemoglobina negativa na tira reativa foi de 26.316/mL no analisador IQ 200®. Esse fato pode ser explicado pela metodologia utilizada pelos fabricantes das tiras reativas, que se baseia na atividade da pseudoperoxidase demonstrada pelo grupo heme presente na hemoglobina (FOGAZZI, VERDESCA e GARIGALI, 2008). Não havendo moléculas livres de hemoglobina, a reação poderá ser negativa, mesmo com eritrócitos na amostra.

Considerando que contagens de eritrócitos acima de 5 células por campo microscópico (aumento de 400x) ou superior a 5.000 células por mL, é importante do ponto de vista clínico, através dos resultados demonstra-se que não é possível confiar somente no resultado da tira reativa. Em relação ao uso isolado da microscopia, a limitação mais importante seria a não detecção dos *ghosts* decorrentes de amostras com hemoglobina livre produzida por distúrbios hemolíticos ou por lise dos eritrócitos no trato urinário (STRASINGER, 2009). Por conseguinte, este trabalho reafirma a necessidade da pesquisa conjunta entre as análises química e microscópica da urina. O método químico determina a presença de sangue e o método microscópico além de distinguir hemoglobinúria de hematúria, detecta a presença de eritrócitos que não reagiram na tira reativa por estarem íntegros além de permitir a identificação de eritrócitos dismórficos.

Em relação à identificação automatizada dos eritrócitos por citômetros de fluxo (UF50, UF100, UF1000 – Sysmex®), como as células possuem bioimpedância (má condução de eletricidade), quando passam entre os eletrodos, elas modificam o seu potencial gerando um sinal diretamente proporcional ao seu tamanho, ou seja, quanto maior a célula, maior a bioimpedância e maior o sinal detectado pelo equipamento. Além disso, utilizam-se corantes como carbocianina (membrana) e fenantridina (estruturas nucleares) que emitem fluorescência. Assim, leucócitos apresentam sinal de fluorescência maior em relação aos eritrócitos, visto que apresentam região mais extensa de membrana e estruturas nucleares. Enquanto o feixe de laser excita os corantes, acaba sendo desviado e detectado na forma de desvio frontal (*forward scatter light*) com relação direta ao tamanho da célula, assim uma célula epitelial, por exemplo, desvia o laser por muito mais tempo que o eritrócito, gerando um sinal maior e mais intenso (HENNEBERG, MARQUES, 2012).

No caso do IQ200®, as imagens são digitalizadas e as partículas identificadas por meio de um *software* e posteriormente quantificadas (IRIS, 2004). Assim, os eritrócitos são facilmente identificados e diferenciados dos demais elementos urinários. Nos equipamentos que utilizam a citometria de fluxo, os eritrócitos são confundíveis com a presença de leveduras (GAI *et al.*, 2003).

Altekin e colaboradores (2010) relataram a influência de partículas (leveduras, cristais de oxalato e bactérias) presentes nas amostras, nas contagens de eritrócitos. No presente trabalho, não foi encontrada nenhuma situação de falso-positivo para eritrócitos quando da presença de leveduras (n=6) nas amostras analisadas (n=275) pelo IQ200®, sugerindo a correta identificação destes elementos pelo sistema de imagens.

Considerando a importância do padrão morfológico dos eritrócitos e da detecção de eritrócitos dismórficos, este trabalho procurou contribuir para avaliar o uso da automação na urinálise como fator de auxílio diagnóstico nas glomerulonefrites. Atualmente, os equipamentos fornecem por meio da impedância, histogramas com dados sobre o volume dos eritrócitos, o que permite uma informação prévia das prováveis variações morfológicas decorrentes da passagem dos eritrócitos pelos capilares glomerulares. A tendência das células dismórficas é apresentarem volumes médios menores quando comparadas aos eritrócitos que não passaram pelos glomérulos (isomórficas)(GAI *et al.*, 2003).

Como descrito anteriormente, o equipamento IQ 200® usa fluxo celular que orienta as partículas de forma hidrodinâmica no interior de um plano focal de lentes microscópicas, acopladas a uma câmara digital. As imagens são digitalizadas e enviadas a um processador. O equipamento reconhece e classifica normalmente os eritrócitos isomórficos, mas não classifica os eritrócitos dismórficos. Boven e colaboradores (2012) compararam o uso do IQ200® com a microscopia de contraste de fase (n=207) em pacientes com suspeita de dismorfismo, utilizando a função “reconhecimento celular” do referido equipamento. Para tanto, profissionais experientes revisaram as imagens em categorias de células “normais” e “não classificadas”. Os profissionais utilizaram os mesmos critérios da microscopia manual. O IQ 200® mostrou imagens suficientes para a classificação de células D1 e D2, mas não apresentou resolução suficiente para a classificação das formas D3

celulares (BOVEN, KEMPERMAN E DEMIR, 2012). Tais autores utilizaram a microscopia manual por contraste de fase para a liberação de resultados no que se refere à pesquisa de eritrócitos dismórficos, técnica tida como mais adequada para a identificação morfológica dos eritrócitos segundo EUG e o CLSI (EUROPEAN URINALYSIS GROUP, 2000; CLSI, 2001).

No presente trabalho, o equipamento analisado IQ 200® (*Iris Diagnostics*) detectou 159 amostras com eritrócitos (n=275), sendo que em 97,5% (n=155) o padrão morfológico foi isomórfico e em 2,5% (n=4), o equipamento liberou a informação como “não classificados”. Seguindo orientações do fabricante, nestes casos, é necessário pedir ao equipamento uma reclassificação, onde são apresentados na tela do equipamento todos os elementos denominados “*unclassified*”. A partir deste momento, a classificação das células depende do profissional que está operando o equipamento. No presente trabalho, a presença de eritrócitos dismórficos foi confirmada por profissionais com ampla experiência na área (FIGURAS 14 e 24). Não foi realizada distinção entre as formas dismórficas encontradas.

Ainda em relação ao trabalho de Boven e colaboradores (2012), que compararam os dados obtidos pelo equipamento em relação ao padrão morfológico dos eritrócitos, os autores recomendam que os técnicos que operam o equipamento sejam treinados para que realizem a identificação dos eritrócitos dismórficos entre as partículas não classificadas de forma padronizada e que atendam os padrões de qualidade preconizados.

No presente trabalho foi utilizada microscopia ótica convencional com abaixamento do condensador, técnica descrita por Barros e colaboradores (2010). A presença dos eritrócitos dismórficos nas amostras que apresentaram a mensagem “não classificados” (*unclassified*) no analisador IQ 200® foram confirmadas na microscopia ótica após a centrifugação da amostra e obtenção do sedimento urinário. Os resultados reafirmam a importância da revisão de todas as amostras nas quais a mensagem “*unclassified*” seja liberada. Neste contexto, o treinamento e a experiência do profissional que atua no setor da urinálise são fatores preponderantes para estas análises. Atualmente todas as amostras de urina da

rotina da UAD-HC com presença de elementos anormais são revisadas através de microscopia tradicional.

Ito e colaboradores (2012) relataram a importância da verificação dos eritrócitos dismórficos além de descrever uma técnica de concentração das amostras de urina de forma a aumentar a positividade em relação ao dismorfismo, além de aumentar a sensibilidade no achado dos cilindros eritrocitários. A metodologia proposta utiliza a concentração de sedimento urinário a partir de um volume de urina de 20 ml. As amostras recebidas na UAD-HC vêm em tubos cônicos de 10 ml, o que impossibilitou a aplicação desta técnica no presente trabalho.

Em relação aos cilindros urinários, 12% das amostras apresentaram cilindros pela análise do equipamento IQ 200®. A presença destes elementos foi confirmada pelos profissionais participantes deste estudo. No caso do IQ 200®, uma rede neural é utilizada para classificar as partículas utilizando como critério: tamanho, textura, contraste e forma, em doze categorias distintas: leucócitos, eritrócitos, agregados leucocitários, cilindros hialinos, cilindros não classificados, células epiteliais de descamação, células epiteliais não escamosas, bactérias, fungos, muco, cristais e espermatozóides.

O equipamento faz a diferenciação entre os cilindros hialinos (sem inclusões) e os demais cilindros (com inclusões), porém é necessária a presença de um profissional habilitado para realizar esta diferenciação e posterior confirmação microscópica (LINKO *et al.*, 2006). Em todas as amostras onde foram identificados cilindros não classificados, estes achados foram confirmados na microscopia ótica. Das 33 amostras positivas para a presença de cilindros, 21 (63,6%) foram classificados como cilindros hialinos e 12 (36,4%) como cilindros não classificados. Pela análise microscópica, foi confirmada a presença destes cilindros. Em 20 amostras, o equipamento relatou a presença de cilindros hialinos e este achado foi confirmado na microscopia convencional. Em uma amostra, foi encontrada além do cilindro hialino, a presença de cilindro eritrocitário, importante achado nas patologias renais. Este fato pode ter acontecido devido à heterogeneidade encontrada nas amostras de urina.

Foram observados cilindros granulosos em 7 amostras (21,2%) e a presença simultânea de cilindros hialinos e granulosos em 5 urinas (15,2%). Em uma amostra,

foi encontrada a presença de cilindros hialinos e granulados na microscopia ótica, enquanto que no equipamento IQ200® não foi informada a presença de cilindros. Neste caso, o equipamento liberou a mensagem “*unclassified*”, porém na avaliação da imagem fornecida pelo equipamento, não foi possível identificar esta alteração morfológica.

No caso dos citômetros de fluxo, os feixes de “laser” desviam conforme o tamanho das partículas, cada sinal emitido é convertido pelo software do equipamento e plotado em um gráfico para análise das partículas menores (eritrócitos, leucócitos e outros) e outro gráfico para partículas maiores (cilindros e células epiteliais). Desta forma, a identificação automatizada dos cilindros, uma vez que são partículas grandes, torna-se mais fácil e de difícil confusão com as demais partículas, porém não há diferenciação entre os cilindros. Lembrando que a presença de determinados cilindros como eritrocitários/hemoglobínicos, leucocitários e céreos/adiposos são importantes para auxiliar nos diagnósticos das glomerulonefrites, pielonefrites e síndrome nefrótica, respectivamente (FOGAZZI, LEONG E LEONG, 1996; EGIDO E ROJAS-RIVERA, 2011; MARTÍN-MORENO, 2011; SPINELLI *ET AL.*, 2013).

No presente trabalho foram comparados os métodos manuais de contagem dos elementos urinários através da câmara de Neubauer e das Lâminas KCell®. Esta comparação se justifica visto que muitos laboratórios ainda utilizam tais métodos na sua rotina, não sendo possível a implantação dos sistemas de automação na urinálise. Em relação à comparação entre as contagens realizadas pelo IQ 200® e os métodos manuais (câmara de Neubauer e KCell®), as contagens de eritrócitos e leucócitos fornecidas pelo IQ 200® mostraram-se mais altas.

A comparação da contagem de eritrócitos entre K-Cell® e o equipamento IQ 200® apresentou valores em média 1,16 vezes maiores no IQ 200® ($R^2 = 0,7897$) e para a contagem de leucócitos, os valores encontrados foram em média 1,6 vezes maiores que os encontrados na contagem em câmara K-Cell® ($R^2 = 0,4811$). A comparação da contagem de eritrócitos entre câmara de Neubauer e o equipamento IQ 200® apresentou valores em média 2,75 vezes maiores no IQ200® ($R^2 = 0,5736$) e para a contagem de leucócitos os valores encontrados foram em média 1,6 vezes maior do que os encontrados na câmara de Neubauer ($R^2 = 0,6053$).

Em outros estudos foram encontradas diferenças nas contagens de eritrócitos e leucócitos, tanto com maior número de elementos contados no IQ 200®, quanto com menor número de elementos em relação às contagens manuais. Esse fato deve-se principalmente a incapacidade do IQ 200® de identificar corretamente os elementos em amostras com número elevado de partículas (leveduras, cristais ovais de oxalato de cálcio, células degeneradas, células agrupadas e muco) (Wah, Wises e Butch, 2005; Cappelletti *et al.*, 2013). Altekin e colaboradores (2010), relataram a incorreta classificação de leveduras e cristais de oxalato de cálcio ovais como eritrócitos.

Os métodos manuais foram utilizados com amostras não centrifugadas, minimizando erros de padronização de volume decorrentes da concentração da amostra após centrifugação. A comparação entre as duas metodologias manuais mostrou-se equivalente para a área de eritrócitos ($R = 0,868$ e $R^2 = 0,754$), e leucócitos ($R = 0,932$ e $R^2 = 0,868$), sendo que na contagem de leucócitos, o erro sistemático foi de 70.11% (1-b). Por muitos anos, a maioria dos laboratórios clínicos, realizava suas análises de urina através das contagens dos elementos urinários em Câmara de Neubauer, que inicialmente era utilizada para contagens de elementos hematológicos. O uso das câmaras comercialmente denominadas KCell® tem origem na Itália, e por sua praticidade em analisar 10 amostras na mesma câmara, tem substituído a câmara de Neubauer na rotina de muitos laboratórios.

Não existem muitos estudos que avaliam a correlação entre as contagens obtidas na câmara de Neubauer e a câmara KCell® na análise de urina. O EUG preconiza a contagem dos elementos urinários em câmaras de contagem, porém sem especificar o tipo de câmara, enfatizando que independente do tipo de câmara utilizada, as etapas do teste devem ser bem padronizadas. Mundialmente, são utilizadas câmaras comerciais como a S-Y slide (CHIEN *et al.*, 2007); Kova Cell Chamber (ALTEKIN *et al.*, 2010); Fuchs-Rosenthal Cell Chamber (WAH, WISES e BUTCH, 2005), e Bürker (LINKO *et al.*, 2006) entre outras.

Considerando que a quantidade e a morfologia dos eritrócitos encontrados na urina é um achado laboratorial muito importante no auxílio diagnóstico das patologias que acometem o sistema genito-urinário, a sua correta quantificação e diferenciação morfológica se faz importante, principalmente no que diz respeito ao

controle de pacientes que realizam o parcial de urina de forma rotineira para a verificação da progressão dessas lesões (COHEN E BROWN, 2003; VASCONCELLOS, 2005; JIMBO, 2010; MARGULIS e SAGALOWSKY, 2011).

Em relação à contagem de leucócitos, os valores superiores a 10 por campo microscópico (aumento de 400x) ou superiores a 10.000/mL de urina, são considerados clinicamente significativos. Apesar de não estarem relacionados diretamente à intensidade dos processos infecciosos, sabe-se que nos casos das pielonefrites, valores extremamente altos de leucócitos podem estar associados à presença de cilindros leucocitários.

Dentro deste contexto, o método utilizado pelos laboratórios clínicos deve ser padronizado, conhecendo suas vantagens e limitações. Os resultados laboratoriais somente devem ser comparados e analisados se utilizado o mesmo método, ou seja, deve ser verificado se o método é manual, qual câmara é usada, se automatizado, se o sistema é ótico ou através de citômetros de fluxo. O presente trabalho correlacionou três métodos diferentes e estabeleceu os perfis das referidas metodologias, importante para que seja possível comparar as metodologias disponíveis atualmente e verificar dentre os métodos, qual melhor se adapta a rotina laboratorial, sem perder o foco na qualidade do exame a ser liberado.

Wah *et al.*, 2005, compararam o comportamento do IQ 200® com contagens realizadas em amostras (n=166) analisadas em câmara de Fuchs-Rosenthal em amostras de urina não centrifugadas (como as utilizadas no presente trabalho) e encontraram boa correlação entre as contagens de leucócitos, eritrócitos e células epiteliais ($R= 0,940$ a $R=0,959$). Alves e colaboradores (2005), por outro lado, comparam amostras de urina centrifugadas (sedimento urinário) com as contagens obtidas no IQ 200® e encontraram um grau de correlação inferior quando comparado ao estudo de Wah *et al.*, 2005, o que comprova que a fase de centrifugação aumenta as fontes de erros do teste.

O exame parcial de urina é uma ferramenta importante na triagem metabólica e de patologias do sistema urogenital, desde que realizado de forma criteriosa e com técnicas padronizadas, sabe-se que muitos laboratórios utilizam amostra de urina centrifugada e não padronizada para a pesquisa dos elementos urinários. Este fato pode acarretar em perdas de cilindros no sobrenadante das

amostras e resultados falso-negativos. Não é raro encontrar na prática laboratorial resultados com presença de dismorfismo eritrocitário e ausência de cilindros eritrocitários, ou presença de leucocitúria maciça nos casos de pielonefrites, mas com ausência de cilindros leucocitários. Estas situações podem ser minimizadas com o uso das amostras não centrifugadas e volume padronizado nas lâminas de leitura microscópica.

Este trabalho também enfatiza a importância da microscopia e da sua realização por profissional experiente. A diferenciação entre os eritrócitos íntegros isomórficos e dismórficos, identificação de cilindros e de cristais ainda permanecem dependentes do exame microscópico, assim como a presença de elementos raros ou incomuns como *Trichomonas vaginalis*, *Pthirus pubis* ou ovos de *Enterobius vermicularis*. Informações estas importantes na prática laboratorial que visam ao bom atendimento do paciente e o auxílio diagnóstico do médico solicitante.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A maioria das amostras era de pacientes do sexo feminino entre 26 e 88 anos;

Em relação à prova de esterase leucocitária na tira reativa, devido a baixa sensibilidade nas amostras com contagem de leucócitos inferior a 25000/mL, não recomendamos o seu uso como triagem para urocultura, lembrando também da presença de outras situações descritas que fornecem resultados falso-positivos e/ou falso-negativos;

Em relação ao teste químico para hemoglobina, o nosso trabalho ressalta a importância do uso concomitante das análises química e microscópica, pois o método químico determina a presença de hemoglobina livre e o método microscópico além de distinguir hemoglobinúria de hematúria, detecta a presença de hemácias que não reagiram na tira reativa visto estarem íntegras;

O uso do IQ 200® mostrou-se adequado para a identificação de leucócitos e hemácias comprovados pela microscopia ótica comum, mas em relação à pesquisa de dismorfismo eritrocitário, o nosso trabalho enfatiza a importância em se revisar todas as amostras com elementos “não classificados”. Não apenas pelo equipamento, mas por análise microscópica convencional ou de fase, desde que executada por profissional experiente;

A presença de cilindros sem inclusões (hialinos) e com inclusões foi detectada pelo IQ200® de forma satisfatória, mas necessita de revisão microscópica para a identificação e classificação dos cilindros com inclusões;

A comparação da contagem de eritrócitos entre K-Cell® e o equipamento IQ 200® apresentou valores em média 1,16 vezes maiores no IQ 200® ($R=0,888$) e para a contagem de leucócitos os valores encontrados no equipamento IQ 200® foram em média 1,6 vezes maiores que os encontrados na contagem em câmara K-Cell® ($R=0,693$);

A comparação da contagem de eritrócitos entre Câmara de Neubauer e o equipamento IQ 200® apresentou valores em média 2,75 vezes maiores no IQ200® ($R=0,757$) e para a contagem de leucócitos os valores encontrados no equipamento

IQ 200® foram média 1,6 vezes maiores que os encontrados na Câmara de Neubauer ($R=0,778$);

A comparação entre as duas metodologias manuais mostrou-se equivalente para as contagens de eritrócitos ($R=0,7548$) e de leucócitos ($R=0,932$).

7 CONCLUSÃO

O IQ200® demonstrou ser uma ferramenta útil na urinálise por melhorar o fluxo das amostras e independender de preparação prévia das amostras, entretanto, os resultados devem ser revistos e liberados por profissionais capacitados e treinados na identificação dos elementos urinários. A KCell® demonstrou ser uma boa alternativa na urinálise tradicional pela rapidez com que as amostras são analisadas e por gerar resultados quantitativos com boa correlação com a Câmara de Neubauer.

A implantação de um aparelho de automação em urinálise deve ser avaliada com cuidado levando em conta a população a ser atendida, o volume de análises realizadas e a disponibilidade de profissionais habilitados para a avaliação dos resultados do aparelho.

Ressaltamos que as metodologias utilizadas devam ser complementadas com a microscopia ótica tradicional ou de contraste de fase, para que os resultados sejam os mais fidedignos possíveis em relação à condição clínica do paciente.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, C. W.; ALEXANDER, S. I. Adenovirus associated haematuria. **Archives of disease in childhood**, v. 90, n. 3, p. 305, 2005.

ALTEKIN, E. et al. New generation IQ-200 automated urine microscopy analyzer compared with KOVA cell chamber. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, Hoboken, v. 24, n. 2, p. 67-71, 2010. ISSN 0887-8013.

ALVES, L. et al. Preliminary evaluation of the IRIS IQ (TM) 200 automated urine analyser. **Clin. Chem. Lab. Med.**, v. 43, n. 9, p. 967-970, 2005. ISSN 1434-6621.

ANDRÉA DE FÁTIMA, S. et al. Nitrito urinário e infecção do trato urinário por cocos gram-positivos Urinary nitrite and urinary-tract infection by gram-positive cocci. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 41, n. 6, p. 397, 2005. ISSN 16762444.

AVENDAÑO, L.H. et al. **Nefrología Clínica**. 3. Ed. Madrid Editorial Médica Panamericana. 1087p. 2009

BARROS, E., MANFRO, RC., THOMÉ, FS, GONÇALVES, LF., Ed. **Nefrologia: rotinas, diagnóstico e tratamento**. Porto Alegre: Artmeded. 2006.

BARROS SILVA, G. E. et al. Evaluation of erythrocyte dysmorphism by light microscopy with lowering of the condenser lens: A simple and efficient method. **Nephrology (Carlton, Vic.)**, v. 15, n. 2, p. 171, 2010.

BASTIDAS, O. NOTA TÉCNICA disponível em <http://www.celeromics.com/es/resources/docs/Articles/Formula-Camara-Neubauer-Concentracion.pdf> em 05/03/2014

BIRCH, D. F.; FAIRLEY, K. F. Haematuria: glomerular or non- glomerular? **Lancet**, v. 2, n. 8147, p. 845, 1979. ISSN 0140-6736.

BLOCK, D. R.; LIESKE, J. C. Automated urinalysis in the clinical lab.(Cover story). **Medical Laboratory Observer**, v. 44, n. 10, p. 8, 2012. ISSN 0580-7247.

BOVEN, L. A.; KEMPERMAN, H.; DEMIR, A. Y. A comparative analysis of the Iris iQ200 with manual microscopy as a diagnostic tool for dysmorphic erythrocytes in urine. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 50, n. 4, p. 751-753, 2012. ISSN 1434-6621. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000304337100026 >.

CAPPELLETTI, P. et al. La Microscopia Intelligente Automatizzata (MIA) è una risposta agli obiettivi clinici dell'esame urine? Una valutazione analitica, diagnostica e organizzativa di iQ200 Iris. **Is Automated Intelligent Microscopy (AIM) an answer to the medical needs of the urinalysis? iQ200 Iris in urine sediment testing: Diagnostic and workflow improvements**, v. 9, n. 2, p. 61-78, 2013. ISSN 1825859X.

CENSO SBN, 2014. Disponível em:
http://sbn.org.br/pdf/censo_2013_publico_leigo.pdf

CHEN, Y. L. et al. Comparing Neubauer Hemacytometer, SY Conventional, SY Located, and Automated Flow Cytometer F-100 Methods for Urinalysis. **Labmedicine**, v. 40, n. 4, p. 227-231, 2009. ISSN 0007-5027.

CHIEN, T.-I. et al. Urine sediment examination: A comparison of automated urinalysis systems and manual microscopy. **Clinica Chimica Acta**, v. 384, n. 1, p. 28-34, 2007. ISSN 0009-8981.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Urinalysis; Approved Guideline-Third Edition GP16-A3 Vol.29, No 4. February 2009

COHEN, R. A.; BROWN, R. S. Microscopic Hematuria. **The New England Journal of Medicine**, v. 348, n. 23, p. 2330-2338, 2003. ISSN 0028-4793.

COSTA, R. S. et al. Evaluation of erythrocyte morphology in the urinary sediment for the differential diagnosis of haematurias using standard light microscopy. **Nephrology**, v. 2, n. 3, p. 181-185, Jun 1996. ISSN 1320-5358. Disponível em: <Go to ISI>://WOS:A1996UR88300006 >.

EGIDO, J.; ROJAS-RIVERA, J. Protocolo diagnóstico de leucocituria y cilindruria. **Medicine - Programa de Formación Médica Continuada acreditado**, v. 10, n. 82, p. 5590-5591, 2011. ISSN 0304-5412.

EUROPEAN URINALYSIS GROUP. European Urinalysis Guidelines. **Scandinavian Journal of Clinical Laboratory Investigation**; 60:1-96, 2000.

FOGAZZI, G. et al. Urine erythrocyte morphology in patients with microscopic haematuria caused by a glomerulopathy. **Journal of the International Pediatric Nephrology Association**, Berlin/Heidelberg, v. 23, n. 7, p. 1093-1100, 2008. ISSN 0931-041X.

FOGAZZI, G. B.; CANT, M.; GARIGALI, G. Anisocytes and poikilocytes in the urine. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 20, n. 4, p. 840-841, 2005. ISSN 0931-0509.

FOGAZZI, G. B.; GARIGALI, G. The clinical art and science of urine microscopy. **Current opinion in nephrology and hypertension**, v. 12, n. 6, p. 625, 2003. ISSN 1062-4821.

FOGAZZI, G. B.; LEONG, S. O.; LEONG, S.-O. **The erythrocyte cast**. 11: 1649-1652 p. 1996.

FOGAZZI, G. B.; VERDESCA, S.; GARIGALI, G. Urinalysis: Core curriculum 2008. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 51, n. 6, p. 1052-1067, Jun 2008. ISSN 0272-6386. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000256551700023 >.

GAI, M. et al. Microscopic urinalysis and automated flow cytometry in a nephrology laboratory. **Clin. Chem.**, v. 49, n. 9, p. 1559-1560, 2003. ISSN 0009-9147.

GIOVANNI BATTISTA, F.; CAMERON, J. S. Urinary microscopy from the seventeenth century to the present day. **Kidney International**, v. 50, n. 3, p. 1058, 1996. ISSN 0085-2538.

GRAVES, J. W. Diagnosis and management of chronic kidney disease.(CONCISE REVIEW FOR CLINICIANS)(Disease/Disorder overview). **Mayo Clinic Proceedings**, v. 83, n. 9, p. 1064, 2008. ISSN 0025-6196.

GROSSFELD, G. D. et al. Evaluation of asymptomatic microscopic hematuria in adults: the American Urological Association best practice policy--part I: definition, detection, prevalence, and etiology. **Urology**, v. 57, n. 4, p. 599, 2001.

HAUSER, A.B., STINGHEN, A.E.M. Síndrome Uretral. In: ALBINI, et al. **Infecções Urinárias uma abordagem multidisciplinar**. Curitiba. Editora CRV, 2012.

HAUSS, O. Bringing Urinalysis into 21st Century: From Uroscopy to Automated Flow Cytometry. **Sysmex Journal International**, v. 18: 38-43, 2000.

HENNEBERG,R.,MARQUES,E..E.M. A contribuição da citometria de fluxo no diagnóstico laboratorial das itus. In: ALBINI, et al. **Infecções Urinárias uma abordagem multidisciplinar**. Curitiba. Editora CRV, 2012.

HICKS, J. et al. Renal diseases associated with hematuria in children and adolescents: a brief tutorial. **Ultrastructural pathology**, v. 36, n. 1, p. 1, 2012.

IRIS Diagnostics. IQ 200 Operators Manual. USA, 2004.

ITO, C.A.S. Exame Físico-Químico da Urina. In: ALBINI, et al. **Infecções Urinárias uma abordagem multidisciplinar**. Curitiba. Editora CRV, 2012.

JIMBO, M. Evaluation and Management of Hematuria. **Primary Care: Clinics in Office Practice**, v. 37, n. 3, p. 461-472, 2010. ISSN 0095-4543.

JOÃO ARIS, K. et al. Fatal rhabdomyolysis after acute sodium monensin (Rumensin®) toxicity: case report Rabdomiólise fatal aguda pós-intoxicação por monensina sódica (Rumensin®): relato de caso. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 59, n. 3A, p. 596, 2001. ISSN 0004282X.

JUNG, H. et al. Association of Hematuria on Microscopic Urinalysis and Risk of Urinary Tract Cancer. **The Journal of Urology**, v. 185, n. 5, p. 1698-1703, 2011. ISSN 0022-5347.

KUBOTA, H. et al. MECHANISM OF URINARY ERYTHROCYTE DEFORMITY IN PATIENTS WITH GLOMERULAR-DISEASE. **Nephron**, v. 48, n. 4, p. 338-339, Apr 1988. ISSN 0028-2766. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1988M483900023 >.

KUNIN, C.M. Infecções do trato urinário e pielonefrite In: WYNGAARDEN, J.B., SMITH, L.H. **Cecil Tratado de Medicina Interna**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 1986. p. 570-574.

KÖHLER, H.; WANDEL, E.; BRUNCK, B. Acanthocyturia--a characteristic marker for glomerular bleeding. **Kidney international**, v. 40, n. 1, p. 115, 1991. ISSN 0085-2538.

LAMCHIAGDHASE, P. et al. Urine sediment examination: A comparison between the manual method and the iQ200 automated urine microscopy analyzer. **Clinica Chimica Acta**, v. 358, n. 1, p. 167-174, 2005. ISSN 0009-8981.

LINKO, S. et al. Analytical performance of the Iris iQ200 automated urine microscopy analyzer. **Clin. Chim. Acta**, v. 372, n. 1-2, p. 54-64, 2006. ISSN 0009-8981.

LUCHS, J. S. et al. Utility of hematuria testing in patients with suspected renal colic: correlation with unenhanced helical CT results. **Urology**, v. 59, n. 6, p. 839, 2002.

LUCILA, M. V. L. et al. Glomerulonefrite associada à infecção pelo vírus da hepatiteC Glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 1, p. 1, 1999. ISSN 00378682.

MARCUS GOMES, B.; GIANNA MASTROIANNI, K. Doença renal crônica: importância do diagnóstico precoce, encaminhamento imediato e abordagem interdisciplinar estruturada para melhora do desfecho em pacientes ainda não submetidos à diálise Chronic kidney disease: importance of early diagnosis, immediate referral and structured interdisciplinary approach to improve outcomes in patients not yet on dialysis. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 33, n. 1, p. 93, 2011. ISSN 01012800.

MARGULIS, V.; SAGALOWSKY, A. I. Assessment of Hematuria. **Medical Clinics of North America**, v. 95, n. 1, p. 153-159, 2011. ISSN 0025-7125.

MARTÍN-MORENO, P. L. Interpretación del urianálisis. **Medicine - Programa de Formación Médica Continuada acreditado**, v. 10, n. 79, p. 5383-5385, 2011. ISSN 0304-5412.

MUNDT, L.A. **Graff's textbook of routine urinalysis and body fluids** 2 ed. Philadelphia.Wolters Kluwer, 2011.

NAGAHAMA, D. et al. A useful new classification of dysmorphic urinary erythrocytes. **Official Publication of the Japan Society of Nephrology**, Tokyo, v. 9, n. 4, p. 304-309, 2005. ISSN 1342-1751.

NEIBERG, A. L. et al. Review of genitourinary tuberculosis with focus on end-stage renal disease Revisão acerca da tuberculose genitourinária com foco na insuficiência renal crônica terminal. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 54, n. 1, p. 57, 2012. ISSN 00364665.

OKADA, H., HORIE, S., INOUE, J., KAWASHIMA, Y. The Basic Performance of Bacteria Counting for Diagnosis or Urinary Tract Infection use the Fully Automated Urine Particle Analyser UF-1000i. **Sysmex Journal International**.v.17:95-111,2007.

OLIVEIRA, R. D. R. D.; MAFFEI, C. M. L.; MARTINEZ, R. Infecção urinária hospitalar por leveduras do gênero Candida Nosocomial urinary tract infections by Candida species. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 47, n. 3, p. 231, 2001. ISSN 01044230.

PILLSWORTH, T. J. et al. Differentiation of renal from non- renal hematuria by microscopic examination of erythrocytes in urine. **Clinical chemistry**, v. 33, n. 10, p. 1791, 1987. ISSN 0009-9147.

RIELLA, M.C. **Princípios de Nefrologia e Distúrbios Hidroeletrolíticos**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

RIZZONI, G.; BRAGGION, F.; ZACCHELLO, G. Evaluation of glomerular and nonglomerular hematuria by phase-contrast microscopy. **The Journal of Pediatrics**, v. 103, n. 3, p. 370-374, ISSN 0022-3476.

ROBINSON, R.R.. Abordagem ao Paciente com Doença Renal. In: WYNGAARDEN, J.B., SMITH, L.H. **Cecil Tratado de Medicina Interna**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 1986. p. 443-448.

SAID, F. R.; GRIFFITH, R. C.; BAYLISS, G. P. An unusual presentation of hematuria. **Kidney international**, v. 79, n. 8, p. 923, 2011.

SEVIGNANI, G. et al. Insuficiência Renal Aguda em pacientes infectados pelo H1N1 – correlação clínico-histológica em uma série de casos. **Jornal Brasileiro de Nefrologia** , v.35, p.185-190, 2013

SKITEK, M. Imprecision and instability of common analytes in urine analysed by semi- automated dipstick urinalysis. **Journal for Quality, Comparability and Reliability in Chemical Measurement**, Berlin/Heidelberg, v. 9, n. 11, p. 700-703, 2004. ISSN 0949-1775.

SOKOLOSKY, M. C. HEMATURIA. **Emergency Medicine Clinics of North America**, v. 19, n. 3, p. 621-632, 2001. ISSN 0733-8627.

SPINELLI, D. et al. Waxy casts in the urinary sediment of patients with different types of glomerular diseases: Results of a prospective study. **Clinica Chimica Acta**, v. 424, p. 47-52, 2013. ISSN 0009-8981.

STAMM, W. E. & NORRBY, S.R. Urinary tract infections: disease panorama and challenges. **The Journal of Infectious Disease**. Washington, v. 183, s.1. p.S1-4, 2001.

STRASINGER, S.K. **Urinálise e fluidos corporais** 5 ed. São Paulo. Livraria Médica Paulista, 2009.

SUN, L. et al. Be alert to tuberculosis-mediated glomerulonephritis: a retrospective study. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, Berlin/Heidelberg, v. 31, n. 5, p. 775-779, 2012. ISSN 0934-9723.

THIAGO RIBEIRO, L.; GIANNA MASTROIANNI, K. Análise renal de ultramaratonista em prova de 75 km Análisis renal de corredora en la prueba de 75 kilómetros Renal analysis in 75 km ultra-marathon participants. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 22, n. spe1, p. 487, 2009. ISSN 01032100.

TITAN, S. et al. **Princípios Básicos de Nefrologia**. 1 ed. Artmed Editora. 295p. 2013

TONELLI, M.; RIELLA, M. Chronic kidney disease and the ageing population. **The Lancet**, 2014. ISSN 0140-6736.

VACUTESTKIMA http://www.vacutestkima.it/gb/produzione/vetrini/precision_cell.htm
Acesso em 15 de setembro de 2012.

VASCONCELLOS, L. D. S.; PENIDO, M. G. M. G.; VIDIGAL, P. G. The importance of the dysmorphic erythrocyte for investigation of the source of hematuria: literature review. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 41, p. 83-94, 2005. ISSN 1676-2444.

WAH, D. T.; WISES, P. K.; BUTCH, A. W. Analytic performance of the iQ200 automated urine microscopy analyzer and comparison with manual counts using Fuchs-Rosenthal cell chambers. **American journal of clinical pathology**, v. 123, n. 2, p. 290, 2005. ISSN 0002-9173.

WANDEL, E.; KOHLER, H. Acanthocytes in urinary sediment - a pathognomonic marker? **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 13, n. 1, p. 206-207, Jan 1998. ISSN 0931-0509. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000071659200044 >.

ZUNINO, D. Patogênese da infecção do trato urinário In: ALBINI, et al. **Infecções Urinárias uma abordagem multidisciplinar**. Curitiba. Editora CRV, 2012.